



PUBLIC HEALTH LIBRARY



# ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

#### UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Züfich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRIELG, Prag; Prof. Dr. F. KRATCHER, Wen; Prof. Dr. L. PHEIMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Grax; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHIOTTELIUS, Freiburg I. B.; Generaloberarz Dr. A. SCHIOSTER, München; Prof. Dr. WERKICKE, Posen.

#### HERAUSGEGEBEN

VON

### J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ó. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN 2U STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

#### SECHSUNDFÜNFZIGSTER BAND.

Mit 34 Abbildungen.



MÜNCHEN UND BERLIN. DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG. 1906.

RAA21 A75



na kanali Alimani da b

## Inhalt.

	Selle
Sozialhygienische und bakteriologische Studien über die Sterblichkeit	
der Säuglinge an Magendarmerkrankungen und ihre Bekämpfung.	
Von H. Hammerl, K. Helle, M. Kaiser, P. Th. Müller	
und W. Prausnitz. (Aus dem Hygienischen Institut der Uni-	
versität und der staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel	
in Graz)	1
I. Einleitung. Von W. Prausnitz	
II. Weitere statistische Erhebungen über die Sterblichkeit der Säug-	
linge an Magendarmkrankheiten. Von mag. pharm. K. Helle,	
Adjunkt an der staatl. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel	
in Graz	13
III. Beobachtungen über die Temperaturverhältnisse in Arbeiter-	
wohnungen während der heißen Jahreszeit. Von Privatdozent	
Dr. Hans Hammerl. (Aus dem Hygienischen Institut der	
k. k. Universität Graz)	22
IV. Über die Kühlbaltung der Milch im Hause. Von Dr. M. Kaiser,	
Assistent. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz)	30
V. Über die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch.	
Von Dr. M. Kaiser, Assistent. (Aus dem Hygienisches In-	
stitut der Universität Graz)	51
VI. Über die Streptokokken der Milch. Von Dr. Paul Th. Müller,	
Privatdozent und Assistent am Hygien. Institut	90
VII. Die Reduktionsprobe, ein Mittel zur Beurteilung des Frische-	
zustandes der Milch. Von Dr. Paul Th. Müller, Privatdozent	
und Assistent am Hygien. Institut	108
VIII. Über den Einflus der Milchkontrolle auf die Beschaffenheit der	
Milch in Graz. Von mag. pharm. K. Helle	205
Untersuchungen über die Erwärmung poröser Objekte durch gesättigte	
Wasserdämpfe bei künstlich erniedrigter Siedetemperatur. Von	
Max Rubner	209

8	Seite
Die wissenschaftlichen Grundlagen einer Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasserdämpfe und flüchtiger Desinfektions-	
mittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck. Von Max Rubner Die experimentelle Herabsetzung der Agglutinierbarkeit bei Typhus- bazillus. Von Dr. Albert Hirschbruch. (Aus dem Kgl. Hygie-	241
nischen Institut in Posen)	280
Einiges über den Einfluss der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen. Von Oberarzt Dr. Viktor K. Rufs, Assistent am bakteriologischen	
Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees	341
Die Abtötung von Bakterien in der Impflymphe mittels Chloroform. Von Dr. A. H. Nijland, Direktor des »Institut Pasteur« und der	
	361
Über die sogenannte Bräune des Rotweins. Von Dr. A. Hamm, Assistenten des Institutes. (Aus dem Institut für Hygiene und	
Bakteriologie der Universität Strafsburg i. Els.)	380
Untersuchungen über die Bekleidung von Arbeitern in verschiedenen	
Lebensumständen. Von Dr. S. J. de Lange, prakt. Arzt zu	
Amsterdam. (Aus dem Hygienischen Institut der Amsterdamer	
Universität)	393



## Sozialhygienische und bakteriologische Studien über die Sterblichkeit der Säuglinge an Magendarmerkrankungen und ihre Bekämpfung.

Von

# H. Hammerl, K. Helle, M. Kaiser, P. Th. Müller

#### W. Prausnitz.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität und der staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Graz.)

- I. Einleitung. Von W. Prausnitz.
- II. Weitere statistische Erhebungen über die Sterblichkeit der Säuglinge an Magendarmkrankheiten. Von K. Helle.
- III. Beobachtungen über die Temperaturverhältnisse in Arbeiterwohnungen während der heißen Jahreszeit. Von H. Hammerl.
- IV. Über die Kühlhaltung der Milch im Hause. Von M. Kaiser.
- V. Die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch. Von M. Kaiser.
- VI. Über die Streptokokken der Milch. Von P. Th. Müller.
- VII. Die Reduktionsprobe, ein Mittel zur Beurteilung des Frischezustandes der Milch. Von P. Th. Müller.
- VIII. Über den Einflufs der Milchkontrolle auf die Beschaffenheit der Milch in Graz. Von K. Helle.

Ta Meli Terror

## I. Einleitung.

Von

#### W. Prausnitz.

In mehreren Arbeiten, welche ich auf Grund langjähriger Untersuchungen und Beobachtungen veröffentlichte, habe ich den Standpunkt vertreten, dass die hohe Sterblichkeit der Säuglinge an Magen-Darm-Erkrankungen durch verschiedene Ursachen bedingt ist. Die ungünstigen' hygienischen Verhältnisse der ärmeren Bevölkerungsschichten sind es, welche zur Folge haben, daß etwa der fünfte Teil der Neugeborenen im ersten Lebensiahre an Magen-Darm-Krankheiten stirbt. Im speziellen haben wir stets Ernährung. Wohnung und Pflege als Hauptursachen hervorgehoben, es aber vermieden, die Bedeutung der einzelnen Faktoren einzuschätzen, weil dies unmöglich ist. In einer überhitzten Wohnung wird ein künstlich ernährter Säugling leicht an einer Verdauungsstörung erkranken, wenn die ursprünglich gute und reine Milch durch die hohe Temperatur sich zersetzt hat, weil entweder keine Möglichkeit vorhanden war, die Milch in zweckmäßiger Weise aufzubewahren oder weil die Mutter oder der den Säugling pflegende Dienstbote zu bequem und unvernünftig war, der Nahrung die notwendige Aufmerksamkeit zu schenken. War es hier die Wohnung, war es die Pflege, war es die Nahrung, welcher die Hauptschuld zu geben ist? Bei verständiger Behandlung braucht die Milch auch in einer heißen Wohnung keinen für den Säugling verderblichen Grad der Zersetzung zu erreichen; in einer kühlen Wohnung wird auch bei mangelhafter Pflege die Milch in kurzer Zeit nicht verderben und bei guter Pflege und entsprechender Wohnung kann dennoch eine unrein gewonnene oder schon im vorgerückten Stadium der Zersetzung befindliche Milch schädlich wirken. Die Möglichkeit, die spezielle Ursache anzugeben, wird gelegentlich bei sorgfältig beobachteten Fällen vorliegen, in der Regel aber nicht. Es ist deshalb recht überflüssig zu streiten, ob dem einen oder dem anderen Fäktor mehr Schuld zu geben ist, da die Entscheidung doch selten möglich sein wird.

Unsere Publikationen sind nicht ohne Beachtung geblieben, sie haben vielseitige Zustimmung gefunden und sind auch nicht wenigen Angriffen ausgesetzt gewesen. Auch das letztere können wir begrüßen, da ja auf unserem Gebiete noch viele Fragen zu lösen sind und um so eher der Lösung zugeführt werden, je mehr man sich mit denselben beschäftigt. Was die Angriffe anlangt, so möchte ich hier nur einen prinzipiell wichtigen Punkt erwähnen. Aus einem Teil der Angriffe war zu entnehmen, daß manche Kinderärzte die Mitarbeit von Hygienikern auf diesem Gebiete gewissermaßen als Eingriff in ihre Rechte betrachten. Stichhaltige Gründe für diesen Standpunkt sind mir nicht bekannt. Auf diesem Grenzgebiet müssen meines Erachtens Pädiater und Hygieniker gemeinsam arbeiten und wenn, wie ich glaube, die ganze Säuglingssterblichkeit in erster Linie als ein soziales Übel aufzufassen ist, so wird und muß gerade dem Hygieniker zum mindesten ein sehr erheblicher Anteil am Kampfe eingeräumt werden, wenn er Erfolg haben soll. Warum gerade von einzelnen Pädiatern die Mitarbeit des Hygienikers perhorresziert wird, ist mir auch deshalb nicht verständlich, weil hier zweifellos von der Prophylaxe das meiste zu erwarten ist. Wie die Internisten sich niemals dagegen gewandt haben, daß Hygieniker sich um die Erforschung der Infektionskrankheiten bemüht, ihre Ätiologie aufgeklärt und die Mittel angegeben haben, wie ihre Verbreitung einzuschränken ist, so sollten auch alle Pädiater auf dem Gebiet der Bekämpfung

1 \*

der Sterblichkeit der Säuglinge an Magen-Darm-Erkrankungen einen analogen Standpunkt einnehmen. —

Die mir unterstellten beiden Anstalten haben nun in der bisher eingeschlagenen Richtung weiter gearbeitet.

Es wurden zunächst während zweier Jahre alle<sup>1</sup>) Todesfälle von Säuglingen an Magen-Darm-Erkrankungen zu einer Statistik verarbeitet, bei welcher die Ernährungs-, Wohnungs- usw. Verhältnisse, soweit möglich, auf das genaueste erhoben wurden; es sollte damit ein Bild von den gesamten Verhältnissen gewonnen werden, welche auf das Wohlsein des Säuglings einwirkten.

Es könnte vielleicht überflüssig erscheinen, dafs nochmals durch besondere Erhebungen die Bedeutung des Einflusses der — ganz allgemein gesprochen — hygienischen Einflüsse bei der Säuglingssterblichkeit an Magen-Darm-Erkrankungen nachgewiesen werden soll. Ich bin anderer Ansicht. Ich spreche die Überzeugung aus, wenn ein erheblicher Teil der Autoren, welche sich mit genanntem Thema beschäftigten und noch beschäftigen, sich die Mühe nehmen würde, nach unserem Vorschlag, auch nur während kurzer Zeit das Milieu zu besichtigen, in welchem die Todesfälle der Säuglinge an Magen-Darm-Erkrankungen erfolgen, so würde noch viel deutlicher, als dies in den letzten Jahren geschehen ist, ein Umschwung im Sinne unserer seit fast einem Jahrzehnt vertretenen Anschauungen erfolgen.

Die Zusammenstellung der von K. Helle gepflogenen Erhebungen bestätigt die früher gewonnenen Resultate, daß nämlich großenteils Kinder der armen und ärmsten Klassen an Magen-Darm-Erkrankungen sterben. Es sind zumeist Kinder von Eltern, welche nicht über die genügenden Mittel verfügen, oder nicht das nötige Verständnis haben, um dem wenig resistenten Säugling zu bieten, was er braucht. Als ein wesentliches Moment kann nach der vorliegenden Statistik auch wieder die Wohnung angesehen werden; in vielen Fällen wird eine unpassende, bzw. in unzweckmäßiger Weise aufbewahrte Nahrung die Veranlassung zur Erkrankung und zum Tode gewesen sein.

<sup>1)</sup> Abgesehen von den im Kinderspital verstorbenen Säuglingen.

Wenn man die Wohnung beschuldigt, daß sie häufig den frühzeitigen Tod der Säuglinge verursacht, so hat dies iedenfalls drei Gründe. Erstens können wir mit Meinert annehmen, daß überhitzte, schlecht ventilierte Wohnungen auf das Befinden der Säuglinge einen ungünstigen Einfluss direkt ausüben müssen. Diese Annahme ist heute um so eher berechtigt, als durch vielfache Beobachtungen und Untersuchungen (Recknagel, Nufsbaum, Flügge und seine Schüler) gezeigt worden ist, dass eine durch hohe Temperaturen und hohen Wassergehalt der Luft bedingte Wärmestauung im Organismus demselben schädlich Da es nunmehr mit Sicherheit erwiesen ist, dass sich Erwachsene bei behinderter Entwärmung nicht wohl fühlen, so kann ein schädlicher Einflus enger überhitzter Wohnräume für den Säugling nicht mehr zweifelhaft sein. Muß ja auch berücksichtigt werden, dass gerade bei den ärmeren Familien mit Säuglingen durch das Trocknen der Windeln in demselben Raum, in welchen sich der Säugling befindet, eine sehr feuchte Luft entsteht, welche dann ebenfalls der Entwärmung des Kindes hinderlich ist.

Die erhöhte Wohnungstemperatur übt zweitens auch auf die Nahrung und vorzüglich auf die Milch einen ungünstigen Einfluss aus. Je höher die Temperatur, um so leichter die Möglichkeit der Zersetzung der Nahrung und Bildung von Stoffen, welche dem empfindlichen Säugling gefährlich werden können. Endlich drittens bietet eine enge, unreinliche, auch nicht mit Wasser versorgte Wohnung in mancher Beziehung direkte und indirekte Veranlassung, das Gedeihen des Säuglings zu stören oder sogar zu schädigen. Dass die Wohnungstemperatur in den Wohnungen der ärmeren Bevölkerung in der Sommerzeit sehr bedeutende Höhen erreicht, wurde durch eine Anzahl von Messungen erwiesen, über welche Dr. Hammerl berichten wird. Unter solchen Umständen kann es nicht zweifelhaft sein, daß in engen, warmen, feuchten Wohnungen die Säuglinge leichter erkranken, die erkrankten leichter sterben, weshalb auf die Beschaffung entsprechender Wohnungen viel mehr Wert gelegt und, wie ich dies schon früher betont habe, die ärmere Bevölke-

rung und ihre Berater angewiesen werden sollten, diesem Punkte eine größere Aufmerksamkeit zu schenken. Ich habe schon vor Jahren darauf hingewiesen, dass insbesondere die Hebammen auf alle Punkte hingewiesen werden sollten, welche für den Säugling verderblich sind. Wie es die Pflicht einer gewissenhaften Hebamme ist, nach Möglichkeit ihren Einfluss dahin geltend zu machen, dass die Mutter das Kind selbst stillt, wie die Hebamme darüber informiert sein soll, wie die Gefahren zu vermeiden sind, welche dem Säugling durch die künstliche Ernährung drohen können, so sollte von ihr auch auf den direkten und indirekten Einflus, welche die Wohnung ausüben kann, aufmerksam gemacht werden. Die Hebammen sind nun einmal die Berater der Frauen der niederen Klassen gerade in der Zeit1), welche für das Gedeihen eines Säuglings von größter Wichtigkeit ist, und könnten, richtig instruiert, gerade bei Bekämpfung einer Krankheitsgruppe wichtige Dienste leisten, welche zum größten Teil, wie ich immer und immer wieder betonen möchte, aus den wenig bemittelten Ständen ihre Opfer fordert.

Um diese Klassen auf die Bedeutung der Wohnung in dieser Richtung hinzuweisen, habe ich hier in Graz noch einen anderen Weg versucht. Durch den Nationalökonomen unserer Hochschule, Prof. Mischler, ist in Graz ein Wohnungsnachweis eingerichtet worden, welcher kostenlos Wohnungen mit einer Maximalmiete von 400 Kronen vermittelt. Zu diesem Zweck werden durch einen Beamten Lage, Größe usw. einer jeden zur Vermittlung überwiesenen Wohnung, ferner auch alle die Momente aufgenommen, welche auf das Wohl der Bewohner von Einfluß sind: Wasserversorgung, Durchlüftbarkeit, Aborte usw. Die Wohnungs suchenden erhalten dann, wenn sie sich über die angemeldeten Wohnungen informieren, auch Kenntnis von diesen für sie und ihre Familien so wichtigen Punkten, und es ist auf meine Anregung im Bureau der Wohnungsvermittlung versucht worden, durch ein besonderes Plakat das Interesse und Verständnis dafür zu

Ich erinnere daran, dass die Halfte aller einjährigen an Magen-Darm Erkrankungen sterbenden Säuglinge auf die ersten beiden Lebensmonate trifft.

erwecken, dass die Wohnung das Gedeihen des Säuglings beeinflust. Das Plakat hat folgenden Wortlaut:

Eltern, welche Säuglinge haben, wird angeraten, sich eine helle, luftige Wohnung zu mieten, weil die Beschaffenheit der Wohnung von großem Einflus auf das Wohl, besonders kleiner Kinder ist. Wohnungen, bei welchen die einzelnen Räume an den entgegengesetzten Seiten Fenster haben, sind leicht durchlüftbar und deshalb besonders zu empfehlen. Wohnungen mit Wasserversorgung bieten unter anderem auch die Möglichkeit, die für den Säugling so notwendige Reinlichkeit und die Reinhaltung der Els- und Trinkgeschirre durchzuführen; auch gestatten sie durch einfache Vorrichtungen die Milch kühl zu erhalten, wodurch deren Zersetzung verhindert wird. Das Sekretariat ist bereit weitere Aufklärungen zu geben.

Ein Hauptnachteil der Wohnungen der ärmeren Klasse besteht in dem häufigen Mangel an Vorrichtungen zum Kühlhalten der Nahrung; Speisekammern fehlen zumeist, Eiskästen zu halten ist aus ökonomischen Rücksichten wohl ganz ausgeschlossen. Dass dann die in den überhitzten Wohnungen aufgehobenen Nahrungsmittel rasch verderben, ist leicht verständlich, besonders, wenn man erwägt, daß die im Sommer eingekauften Nahrungsmittel - Milch! - gewöhnlich schon in einem vorgerückten Stadium der Zersetzung in die Hände des Konsumenten gelangen. Ich habe deshalb schon vor längerer Zeit den Direktor unseres Wasserwerks zu Versuchen angeregt, welche die Verwendbarkeit des in die Wohnungen eingeführten Leitungswassers zum Kühlhalten der Nahrungsmittel dartun sollten. Ich wollte über dem Auslaufe der Wasserleitung einen kleinen Speisekasten in die Mauer einbauen und um diesen herum in mehrfachen Windungen das Rohr der Wasserleitung legen, so daß dadurch eine Abkühlung des kleinen Speisekastens erfolgt wäre, der immerhin zur Kühlhaltung der Milch oder einiger anderer Speisen genügt hätte. Die Versuche wurden jedoch nicht ausgeführt, weil eine Verschwendung des Wassers befürchtet wurde.

Wie schwierig die Erhaltung der Nahrungsmittel im Sommer ist, wenn man über Eiskasten und Speisekammer nicht verfügt, das erfahren auch die wohlhabenden Familien, wenn sie sich in »Sommerfrischen« selbst verpflegen, vorzüglich dann, wenn ein Säugling künstlich ernährt, und die Milch kühl erhalten werden muß. Ich habe in einem solchen Fall in einem kleinen steirischen Badeort in der Nähe von Graz vor sieben Jahren mit gutem Erfolge folgendes gemacht. Da die dort vorhandenen Wohnungen wegen der zumeist gebrauchten Wasserkuren mit Badeeinrichtung versehen sind, habe ich in die Badewanne ein kleines Schaff gesetzt, an welches ich einen Überlauf derart anbrachte, daß das Wasser etwa 10 cm hoch in dem kleinen Schaff stand, wenn dasselbe aus dem Zufluß ausgelassen wurde. Durch zeitweises Laufenlassen des Wassers behielt das Wasser des kleinen Schaffs stets eine kühle Temperatur, ebenso wie die in das Wasser eingesetzten Soxhletfläschchen. Die guten Erfolge dieses kleinen und einfachen Kühlbehälters haben mir später den Gedanken nahe gelegt, etwas ähnliches zu konstruieren, was der ärmeren Bevölkerung das Kühlhalten der Milch gestatten würde. Hierzu wurde ich auch durch den Umstand veranlafst, dass nach unseren vielfachen Erhebungen gerade die in engen, dicht bevölkerten Wohnungen der ärmeren Klasse aufgezogenen künstlich ernährten Säuglinge sehr häufig im ersten Lebensjahre an Magen-Darm-Erkrankungen sterben. Ich habe deshalb im Winter 1904-1905 einige Kisten anfertigen lassen, deren Wandungen und Deckel mit Korksteinen ausgelegt sind. Das aus einem Konglomerat von zerkleinertem Kork mit mineralischem Bindemittel hergestellte Korksteinmaterial, welches in der Praxis zur Isolierung häufig Verwendung findet, zeichnet sich als schlechter Wärmeleiter aus und läßt sich mit Säge, Messer usw. leicht behandeln. Da es zur Herstellung von Eiskästen vielfach benutzt wird, hielt ich es auch für unsern Zweck geeignet.

Die hier angesertigten Korksteinkästen haben weiterhin zwei Blechgesase erhalten, welche, mit kaltem Wasser gesüllt, im Innern des Kastens auch bei höherer Außentemperatur längere Zeit eine so niedrige Temperatur erhalten, das eine rasche Zersetzung der Milch ausgehalten wird. Dr. Kaiser hat mit diesen Kästen im vergangenen Winter und im verslossenen Sommer Unter-

suchungen gemacht, über welche er in der zweiten Arbeit berichten wird. Da vor wenigen Monaten von Speck eine Arbeit erschienen ist 1), welche ganz ähnliche Untersuchungen mitteilt, können die aus unserm Institut hervorgegangenen im wesentlichen nur bestätigen, was von Speck bereits mitgeteilt wurde, dass es nämlich mit einfachen Mitteln ohne erhebliche Kosten möglich ist, Vorrichtungen zu schaffen, welche auch ohne Eiskasten oder Speisekammern einen ausreichenden Schutz der Milch vor der hohen Temperatur dicht bewohnter Räume gestatten.—

Weitere Studien beschäftigten sich mit Fragen, welche zur künstlichen Ernährung des Säuglings in enger Beziehung stehen.

Es wurde zunächst nochmals in einer Reihe von Versuchen das bakteriologische Verhalten der bei verschiedenen Temperaturen gehaltenen Milchproben untersucht. Dr. Kaiser benutzte hierzu die von Petruschky angegebene Verdünnungsmethode; er konnte bestätigen, was Petruschky gefunden, dass viele Milchproben Streptokokken in ganz kolossaler Menge enthalten. Über deren pathologische Bedeutung sind von P. Th. Müller besondere Versuche gemacht worden, welche bei vorsichtiger Erwägung der erhaltenen Versuchsergebnisse unter Berücksichtigung der Untersuchungen anderer Forscher jedenfalls den Schluß gestatten, daß in der Milch pathogene Streptokokken enthalten sind. In welcher Menge unter den zahlreich gefundenen Streptokokken sich pathogene befinden, konnte noch nicht entschieden werden und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

In einer anderen Arbeit von P. Th. Müller wird die Frage erörtert, ob man sich nicht in einer einfachen Weise über die Qualität einer Milch mit Bezug auf ihre Frische ein Urteil verschaffen könne. Müller ist deshalb von den Versuchen Smiths ausgegangen, welche sich mit der Reduktion von Methylenblau zu einer farblosen Leukoverbindung durch die Milch beschäftigen. Die Reduktion kann durch Milchzucker, Fermente und Bakterien verursacht werden. Da nur die Bakterien in unveränderter natürlicher Milch zur Wirkung kommen, erscheint die Feststellung

<sup>1)</sup> Deutsche med. Wochenschrift.

der Reduktionstätigkeit als ein Mittel, auf den Gehalt an Bakterien und damit die Frische der Milch zu schließen. Es wurde nun ein Verfahren ausgearbeitet, welches im Laboratorium und ein noch einfacheres, welches im Haushalt die Reduktionsprobe als Mittel zur Beurteilung des Frischezustandes der Milch zu verwenden gestattet; es sollte dem praktischen Arzt und sogar der verständigen Hausfrau die Möglichkeit geboten werden, in einfacher Weise ohne wissenschaftliche Apparate festzustellen, ob die Milch in bezug auf Frische den Anforderungen genügt, welche man an eine Säuglingsmilch stellen muß.

Die letzte der Arbeiten - von K. Helle - ist eine ganz kurze Zusammenstellung der Ergebnisse unserer Bemühungen, die Versorgung von Graz mit Kuhmilch nach Möglichkeit zu heben. Man ist in der neueren Zeit bemüht, durch Beschaffung einwandfreier Milch die Säuglingssterblichkeit herabzusetzen. Über die Ausdehnung dieser Bestrebungen hat in diesem Jahre v. Ohlen eine sorgfältige Zusammenstellung publiziert1). Wir können dieser Arbeit entnehmen, daß bisher selbst in den größten Städten noch nicht sehr viel geschehen ist. Wenn, was zu hoffen und zu wünschen ist, diese Bestrebungen sich auch immer mehr aus breiten werden, so werden sie sich in absehbarer Zeit doch keinesfalls so entwickeln, dass man annehmen kann, dass auch nur der größte Teil der künstlich ernährten Säuglinge der ärmeren Bevölkerung mit einwandfreier Milch versorgt wird. Der allgemeinen Kontrolle der Milchversorgung wird deshalb auch aus diesem Grunde stets eine wichtige Aufgabe zufallen, und sie wird ihr Ziel erreichen, wenn, wie dies bei uns seit langer Zeit geschieht, nicht nur darauf gesehen wird, dass die Milch nur einen bestimmten minimalen Fettgehalt aufweist. Dass dies richtig ist, davon kann sich jeder überzeugen, welcher sich in den Städten gelegentlich den Milchverkehr etwas näher ansieht. Auch in den Städten, in welchen durch Wohltätigkeitsvereine einwandfreie Milch an eine zumeist recht kleine Zahl von Familien abgegeben wird, wird gewöhnlich bei Versorgung der ganzen Stadt und damit auch des

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Hygiene. 1905, Bd. 49.

Gros der Säuglinge noch sehr gesündigt, weshalb man sich keinesfalls davon abhalten lassen soll, durch eine entsprechende Kontrolle an der Hebung der gesamten Milchversorgung mitzuwirken. Man darf eben auch in dieser Richtung nicht die Größe der Aufgabe vergessen, die insbesondere in den größeren Städten zu leisten ist. —

Vor einiger Zeit wurde gelegentlich einer Umfrage über die größte Tat des 19. Jahrhunderts von Ludwig Fulda1) die Ent. deckung des sozialen Gewissens als solche Tat bezeichnet und es ist zweifellos, daß das Interesse für soziale Fragen, welche für die Gesamtheit des Volkes Bedeutung haben, erst im vorigen Jahrhundert in weiteren Kreisen wachgerufen wurde. Was die hohe Säuglingssterblichkeit anlangt, welche auch nur als ein Teil der sozialen Frage aufgefalst werden kann, so ist für das 20. Jahrhundert noch viel zu tun übrig geblieben. Die Leistungen werden das zu erstrebende Ziel um so eher erreichen, je mehr man sich der Größe und der Bedeutung der Aufgabe bewußt wird und je mehr man sich der von uns seit langer Zeit vertretenen Anschauung anschliefst, daß zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit nicht kostspielige Milchpräparate, sondern Mittel zu verwenden sind, welche den Klassen nützen, deren Säuglinge fast ausschliefslich an Magen-Darm-Erkrankungen zugrunde gehen. '

<sup>1)</sup> Zit. nach Adickes, Die sozialen Aufgaben der Städte. Techn. Gemeindeblatt, 1903, Nr. 12.

## II. Weitere statistische Erhebungen über die Sterblichkeit der Säuglinge an Magendarmkrankheiten.

Von

mag. pharm. K. Helle,
Adjunkt an der staatl. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Graz.

Die von Prausnitz, Kermauner und Helle angestellten statistischen Erhebungen, welche sich vom Jahre 1880 bis 1899 erstreckten und die Einwirkung der Wohlhabenheit auf die Kindersterblichkeit an Magendarmkrankheiten betrafen, wurden in der letzten Zeit von mir weiter geführt und auf die Jahre 1903 und 1904 ausgedehnt.

Da die Prinzipien, nach welchen diese in dividualisieren de Statistik ausgeführt wurde, von Prausnitz bereits mehrfach — das letzte Mal in seinen »Physiologischen und sozialhygienischen Studien über Säuglingsernährung und Säuglingssterblichkeit« — ausführlich auseinandergesetzt wurden, so mag es an dieser Stelle genügen, nur die wichtigsten, für das Verständnis des Folgenden unumgänglich notwendigen Punkte in Erinnerung zu bringen.

Nach einer von dem Budapester Statistiker Körösi eingeführten Einteilung wurden alle Todesfälle von Säuglingen, welche an Magen-Darm-Erkrankungen zugrunde gegangen waren, in vier Wohlhabenheitsklassen eingeordnet, und zwar 1. Reiche, 2. Mittelstand, 3. Arme, 4. Notleidende.

Die Einteilung in diese vier sozialen Gruppen macht im allgemeinen, wenn man Stand bzw. Beruf der Eltern und Größe der Wohnung in Betracht zieht, keine wesentlichen Schwierigkeiten. Etwaige Mifsgriffe, durch welche eine Einordnung eines Falles in eine nächsthöhere oder auch nächstniedere Klasse stattfinden würde, sind natürlich bei derartigen Statistiken niemals auszuschließen, lassen sich aber durch eine genaue Erhebung der speziellen Verhältnisse des betreffenden Falls auf ein Minimum reduzieren. Ich habe mich aus diesem Grunde der Mühe unterzogen, in jedem einzelnen Falle, der vom Stadtphysikat aus an das Institut mitgeteilt wurde, die betreffende Familie bzw. die Mutter zu besuchen, und nach dem Vorgange Meinerts genaue Aufzeichnungen über folgende Punkte zu machen:

- Name des verstorbenen Säuglings. Alter. Todestag. Ehelich oder unehelich.
- Beruf der Eltern. Wohlhabenheit. Verdienst. Gesundheitzustand.
- Ernährung: Brust, bis zu welcher Zeit? Allein, oder mit künstlicher Nahrung. Künstlich? Behandelt von einem Arzte.
- 4. Pflege des Säuglings?
- Wohnung. Bauweise: offen, geschlossen? Hofgebäude. Lage der Wohnung im Vordergebäude, Anbau, Hintergebäude. Himmelsrichtung. Stockwerk.
- 6. Wohnung, bestehend aus....fenstrigen Räumen. Zimmer, Sparherdzimmer; Küche. Größe der Räume: Länge, Breite, Höhe, Bodenfläche, Kubikinhalt. Fensterfläche. Fensterfläche = % der Bodenfläche.
- 7. Bewohnt von . . Erwachsenen, . . . Kindern, . . Bettgehern.
- Beschaffenheitder Wohnung: durchlüftbar, trocken, feucht, rein, schmutzig.
- 9. Wird im Zimmer gewaschen oder gekocht?
- 10. Wasserleitung: wo angebracht?
- 11. Kosten der Wohnung.

Durch diese detaillierte Aufnahme aller für das Gedeihen des Säuglings in Betracht kommenden Faktoren war es möglich, ein genaues Bild davon zu erhalten, welcher Art das Milieu ist, 14 II. Weitere statistische Erhebungen üb. d. Sterblichkeit d. Säuglinge etc.

in welchem die Hauptsterblichkeit der Säuglinge an Magendarmkrankheiten zur Beobachtung gelangt.

Die Ergebnisse dieser statistischen Erhebungen für die beiden Jahre 1903 und 1904 stimmen nun außerordentlich gut mit den Zahlen der früheren Jahre überein.

Tab. I enthält zunächst, und zwar für die Jahre 1901—04 die Zahl der Geburten, der Gesamttodesfälle und der Todesfälle an Magendarmkrankheiten bei Säuglingen im ersten Lebensjahr nach den Zusammenstellungen des Stadtphysikats. Nach nochmaliger Durchsicht des Totenprotokolls und Ausscheidung der im Kinderspital gestorbenen Säuglinge blieben für diese beiden Jahre nur die Zahl von 170 Todesfällen, und diese 170 Fälle sind es, die in den folgenden Tabellen statistisch verarbeitet wurden.

Tabelle L.

Jahr	Zahl der Geburten	Zahl der Ge- samttodesfalle	falle en Megen.		Todesf, an Magen- darmkrankheiten in % der Todesfälle
1901	4569	639	123	2,69	19,2
1902	4506	613	119	2,64	19,4
1903	4422	586	106	2,39	18,09
1904	4420	582	135	3,05	23,2

Tab. II gibt zunächst an, wie viel Säuglinge aus jeder der vier erwähnten Wohlhabenheitsklassen in dem betrachteten Zeitraum an Magendarmkrankheiten zugrunde gingen; Tab. III enthält dann dieselben Zahlen, aber auf 100 berechnet, und gestattet zugleich einen Vergleich mit dem Durchschnitt der früheren Jahre 1880—1899. Wie früher, so war auch im Jahre 1903 u. 04 kein einziges Kind aus der ersten Wohlhabenheitsklasse an Magendarmkrankheiten gestorben; die zweite Klasse steuerte wieder etwa um 5% zu der Gesamtsterblichkeit bei und die weitaus überwiegende Zahl der an Darmaffektionen gestorbenen Kinder gehörte der Klasse der Armen und Notdürftigen an.

Was die Verteilung dieser Todesfälle auf die einzelnen Monate des Jahres betrifft, so äußert sich auch hier wieder der Einfluß der warmen Jahreszeit außerordentlich deutlich. Während von November bis April im Maximum 7 Kinder pro Monat an Magendarmkrankheiten zugrunde gingen, schnellt die Zahl der Todesfälle nach Tab. IV für den Monat August auf 17 bzw. 18, für September auf 15 bzw. 13 empor.

Tabelle II.
Es starben aus der Wohlhabenheitsklasse:

Im Jahr	I	11	III	IV
1903	0	5	24	58
1904	0	4	25	54
1903-1904	0	9	49	112
Durchschnitt	0	4,5	24,5	56

Tabelle III.

Von 100 an Magendarmkrankheiten gestorbenen Kindern im ersten Lebensjahre gehörten zur Wohlhabenheitsklasse:

	I	П	ш	IV
Durchschnitt 1903-1904	0	5,3	28,8	65,9
Durchschnitt 1890-1899	0	5,0	36,2	58,8

Tabelle IV.

Verteilung der Todesfälle auf die einzelnen Jahresmonate.

Monat							1903	1904	Davon uneheliche Kinder	
Januar .			٠.			.	6	6	5	
Februar						. [	2	2	1	
Marz .							1	4	2	
April .							3	5	4	
Mai							7	2	2	
Juni							5	4	4	
Juli							11	11	11	
August .						.	17	18	12	
September						. ]	15	13	10	
Oktober						.	10	7	3	
November						. 1	7	5	5	
Dezember						. /	3	6	2	
				Su	mn	10	87	83	61	
			8	um	me	190	3-1904	170	61	

Die in Tab. V gegebene Zusammenstellung der Todesfälle nach Lebensmonaten der Säuglinge läßt in deren kontinuierlicher Abnahme von der Geburt an bis zum zwölften Monat klar erkennen, daß die jüngsten Säuglinge am meisten unter den Magendarmerkrankungen zu leiden haben, daß aber mit zunehmendem Alter ihre Resistenz immer größer wird.

Tabelle V.

Verteilung der Todesfälle auf die einzelnen Lebensmonate.

Monat	1903	1904	Summe 1903—1904
1.	21	12	33
2.	23	19	42
3.	14	14	28
4.	9	14	23
5.	5	4	9
6.	7	7	14
7.	1	4	5
8.	1	4	5
9.	2	_	2
10.	2	2	4
11.	2	2	4
12.	-	_	0
Summe	87	82 + 1')	169 + 1

Nicht uninteressant ist die Zusammenstellung der gestorbenen Säuglinge nach den Berufsarten ihrer Eltern, welche in Tab. VI aufgeführt sind. Wie Prausnitz schon in seinen Physiolog. und sozialhygien. Studien« hervorgehoben hat, fehlen auch hier ganz oder fast ganz alle jene Berufsarten und Stände, bei welchen sich eine gewisse Wohlhabenheit mit Intelligenz zu paaren pflegt: so Ärzte, Apotheker, Architekten, Baumeister, Bankiers, Fabrikbesitzer, Hochschulprofessoren, Notare, Rechtsanwälte, Richter«. Es bildet daher diese Tabelle eine sehr wesentliche und anschauliche Ergänzung zu Tabelle II bzw. III, aus welchen ja hervorging, dass auch während der Jahre 1903 und 1904 kein einziges

<sup>1)</sup> Von einem Kind war das Alter unbekannt.

Kind der I. Klasse, also der Wohlhabenden, an einer Magendarmkrankheit gestorben war.

Tabelle VI. 1903 und 1904. Beruf der Eitern der gestorbenen Säuglinge.

Agent	1	Hausbesitzer	3	Schneiderin 3
Amtsdiener	1	Heizer	2	Schriftsetzer 1
Anstreichergehilfe	2	Hausmeisterin	4	Schuhmacher 3
Arbeiterin	2	Hilfsarbeiter	4	Schustergehilfe 1
Backergehilfe	1	Hilfsbeamter	1	Selchergehilfe 1
Bahnarbeiter	2	Hutmachergehilfe	1	Spänglergehilfe . 2
Bahnbediensteter	2	Hydrantenwärter .	1	Sicherheitswach-
Bauer	1	Kaffeekoch	1	mann 1
Beamtenstochter	2	Kanzlist	2	Steinbildhauer 1
Baumeister	1	Kassierin	2	Steinmetzgehilfe . 3
Bedienerin	1	Kellnerin	1	Stickerin 1
Braugehilfe	1	Kaufmann	3	Stubenmädchen . 4
Brunnenmacher-		Köchin	7	Taglöbner 7
gehilfe	1	Kutscher	2	Taglöhnerin 6
Buchbindergeselle .	1	Lackierergehilfe .	1	Tapezierer 1
Büglerin	1	Magd	4	Telephonaufseher . 1
Dachdeckergehilfe	1	Maschinist	2	Tischlergeselle 7
Fabrikarbeiter	9	Maurergehilfe	3	Verkäuferin 2
Fabrikarbeiterin .	2	Näherin	5	Wagnergehilfe 1
Fahrradätzer	1	Platzmeister	1	Wäscherin 3
Fassbindergehilfe .	1	Postbeamter	2	Wachtmeisters-
Fleischergehilfe .	1	Privatbeamter	1	tochter 1
Fleischermeister .	3	Schlossergehilfe .	4	Werkmeister 2
Friseur	4	Schlossermeister .	2	Wirtschafter 1
Gartnergehilfe	3	Schmiedgehilfe	3	Zollbeamter 1
Gefangenaufseher .	1		3	
Geschäftsleiter	4		1	

Höchstens die drei Kinder von Hausbesitzern könnten auf den ersten Blick eine Ausnahme von dieser Regel zu bilden scheinen, wenn man nur dem Klange dieses Namens nach urteilen würde. Die genauere Erhebung, wie wir sie ausgeführt haben, ergab jedoch auch hier, dass es sich im wesentlichen um kleine Geschäftsleute handelte, die in die III., höchstens in die II. Wohlhabenheitsklasse eingeordnet werden mussten und nur ein Zimmer und eine Küche bewohnten, welche Räume überArchit für Breiene. Bd. LVI.

dies sämtlich nicht durchlüftbar waren. In einem dieser Fälle wurde das betreffende Kind übrigens nicht von der — schwer erkrankten — Mutter selbst gepflegt, sondern von der Schwägerin der Frau und von der Hebamme, was ebenfalls mit dazu beigetragen haben mag, die Lebensbedingungen desselben ungünstiger zu gestalten. Man mag auch aus diesen Beispielen wieder entnehmen, wie wichtig es für die Erkenntnis des Einflusses der sozialen Verhältnisse auf die Säuglingssterblichkeitst, detaillierte und möglichst vielseitige Erhebungen und zwar an Ort und Stelle zu pflegen, und sich nicht auf die allgemeine Charakterisierung, etwa nach Berufsarten, zu verlassen.

Was das Kind eines Baumeisters anlangt, so muß hervorgehoben werden, daß dasselbe vorher pauf der Kost« war, also nicht im Elternhause verpflegt wurde; es kam krank ins Elternhaus zurück. Es liegen also abnormale Verhältnisse vor.

Tabelle VII. Art der Ernährung.

Jahr	Reine Brustnahrung	Teils Brust-, teils künstl. Ernährung, bzw. erst Brust, später künstlich	Künstliche Ernährung	Unbekannt	
1903	4	20	62	1	
1904	0	28	55	0	
1903-1904	4	48	117	1	

Über die Art der Ernährung, welche die an Magendarm-krankheiten verstorbenen Säuglinge genossen hatten, gibt Tab. VII Aufschlufs. Da die Brusternährung in Graz — im Gegensatz zu einzelnen anderen Gegenden Österreichs — weit seltener ist, und da ferner gerade in jenen Bevölkerungskreisen, welche den Hauptanteil zur Säuglingssterblichkeit liefern, die ungünstigen sozialen Verhältnisse die Frauen oft verhindern, ihre Kinder tagsüber zu stillen, so ist das bedeutende Überwiegen der künstlichen oder wenigstens der gemischten Ernährung wohl verständlich. Ob und inwieweit hierin auch ein Ausdruck für die nicht zu bezweifelnde Tatsache zu sehen ist, zdaß das mit Muttermilch ernährte Kind ceteris paribus für sein Gedeihen viel

günstigere Bedingungen hat wie das künstlich ernährte« (Prausnitz) ist nicht ohne weiteres zu sagen, wenn es auch als sehr wahrscheinlich werden kann, daß sich auch der günstige Einfuß der Brusternährung an und für sich mit in dieser Tabelle ausprägt. Um hierüber volle Klarheit zu erhalten, müßte vor allem bekannt sein, wie viele von den Grazer Säuglingen überhaupt bei künstlicher, bei gemischter Nahrung oder an der Brust aufgezogen werden. Für die Berechnung dieser Zahlen fehlt jedoch jedes Urmaterial.

Was nun die Wohnungsverhältnisse der an Magendarmkrankheiten erlegenen Säuglinge anbetrifft, so haben unsere Erhebungen diesbezüglich folgendes ergeben. Berechnet man, wieviel Kubikmeter Raum für einen Erwachsenen in den betreffenden Wohnungen zur Verfügung stehen - wobei zwei Kinder einem Erwachsenen gleich gesetzt wurden. - der Säugling jedoch immer für einen Erwachsenen gerechnet wurde, weil ein solcher zur Verunreinigung der Wohnungsluft direkt und indirekt jedenfalls nicht weniger beiträgt als ein Erwachsener, so findet man, dass derselbe 63 mal unter 15 cbm, 101 mal über 15 cbm beträgt, während in den restierenden 6 Fällen aus äußeren Gründen eine Erhebung der für diese Berechnung nötigen Daten unterbleiben mußte. Betrachtet man eine Wohnung, in welcher weniger als 15 cbm pro Kopf kommen, als übervölkert, so waren also für die Jahre 1903 und 1904 ca. 38% der Wohnungen, in welchen Säuglinge an Magendarm. krankheiten zugrunde gegangen waren, als übervölkert zu bezeichnen.

Noch interessanter sind die Resultate bezüglich der Dürchlüftbarkeit der Wohnungen, welche in Tab. VIII zusammengestellt sind. Als durchlüftbar wurde eine Wohnung angenommen; bei welcher Fenster nach zwei entgegengesetzten
Richtungen vorhanden waren; als teilweise durchlüftbar
wurde sie dann bezeichnet, wenn die Fenster nur nach zwei zueinander senkrecht stehenden Richtungen gingen; und wenn
endlich alle Fenster nach einer einzigen Seite gerichtet waren,
so wurde dieselbe als nicht durchlüftbar verzeichnet. Wie

man sieht — und wie auch bereits Prausnitz in seinen mehrfach zitierten ⇒Studien∢ hervorgehoben hatte, — ist die Zahl der vollkommen durchlüftbaren Wohnungen eine erschreckend geringe. Nur in 15,4% aller Fälle waren Wohnungen vorhanden, welche in bezug auf Durchlüftbarkeit allen Anforderungen genügten; in 19,5% waren dieselben nur als teilweise durchlüftbar zu bezeichnen, und in 65% aller Fälle wurden sie als nicht durchlüftbar befunden.

Tabelle VIII.

Durchlüftbarkeit der Wohnungen.

Jahr	Vollkommen durchlüftbar	Teilweise durchlüftbar	Nicht durchlüftba	
1903	10	18	59	
1904	16	15	51	
Summe	26	33	110	
In Prozenten	15,4	19,5	65,0	

Tabelle IX. Reinlichkeit der Wohnungen.

Jahr	Rein	Mittelrein	Schmutzig
1903	25	38	28
1904	16	37	29
Summe	41	70	57
In Prozenten	24,4	41,6	33,9

Dafs derartige mangelhaft oder überhaupt nicht lüftbare Wohnungen, besonders wenn sie noch allzudicht bevölkert sind, höchst ungünstige Lebensbedingungen für den zarten Säuglingsorganismus darbieten müssen, und überdies auch, wegen der hohen Temperaturen, die sich in ihnen entwickeln, die Frischhaltung der Milch wesentlich erschweren, ist leicht begreiflich. So ist es denn nicht zu verwundern, dafs gerade in solchen Wohnungen die Säuglingssterblichkeit eine besonders hohe zu sein pflegt.

Nicht weniger instruktiv sind die in Tab. IX aufgeführten Daten über den Reinlichkeitszustand der betreffenden Wohnungen. Als vollkommen rein waren dieselben nämlich nur in 24,4% aller Fälle zu bezeichnen, während 41,6% nur mittelrein und 33,9 direkt schmutzig gefunden wurden, gewifs auch eine Tatsache, die nicht ohne Einfluß auf das Gedeihen der Säuglinge sein kann. 1)

Jedenfalls wirken Übervölkerung, Unreinlichkeit und mangelhafte Lüftbarkeit der Wohnungen im gleichen Sinne zusammen, um die Lebensbedingungen der Säuglinge zu verschlechtern, und um ihre Sterblichkeit an Magendarmkrankheiten zu erhöhen.

<sup>1)</sup> Von einer Wiedergabe der Zusammenstellungen über den Einfluss der Zahl der Geschwister auf die Sterblichkeit der Säuglinge wird wegen der Kleinheit des Materiales abgesehen. Aus demselben Grund unterbleibt auch die Mitteilung der Verteilung der Sterbefälle auf die einzelnen Stockwerke eines Hauses.

## III. Beobachtungen über die Temperaturverhältnisse in Arbeiterwohnungen während der heifsen Jahreszeit.

Von

#### Privatdozent Dr. Hans Hammerl.

(Aus dem Hygienischen Institut der k. k. Universität Graz.)

Mehr und mehr bricht sich in den Kreisen der Hygieniker und Pädiater die Anschauung Bahn, daß für die Säuglingssterblichkeit nicht allein die unzweckmäßige Ernährung als Ursache anzusprechen ist, sondern daß für dieselbe auch die äußeren Umstände, unter welchen sich der Säugling befindet, mit verantwortlich gemacht werden müssen. Zu diesen äußeren Umständen zählte vor allem die Wohlhabenheit der Eltern und damit in engem Zusammenhang die sorgfältige oder weniger sorgfältige Pflege des Kindes, ferner die Lage des Hauses, die Geräumigkeit der Wohnung, ihre Lüftbarkeit, die Wasserversorgung u. dgl. In seinen physiologischen und sozialhygienischen Studien über Säuglingsernährung und Säuglingssterblichkeit hat W. Prausnitz1) auch die hier in Betracht kommenden äußeren Momente einer zusammenfassenden Besprechung und eingehenden Kritik unterzogen und ist dabei zu dem Resultat gekommen, daß sich, auch was die außeren Bedingungen betrifft, ein enger Zusammenhang zwischen Pauperismus und Säuglingssterblichkeit nachweisen lasse, daß es aber nicht unmöglich sei, die Verhältnisse in dieser Richtung zum Besseren zu wenden und dadurch die hohe Sterblichkeit herabzudrücken.

<sup>1)</sup> S. Literatur S. 29,

Die Tatsache, dass stets der Sommer die meisten Opfer unter den Säuglingen fordert, hat schon sehr früh den Gedanken nahegelegt, dass nicht allein die durch die hohe Temperatur hervorgerufene Zersetzung der Milch Schuld an der großen Sterblichkeit sein dürfte, sondern dass hierfür auch die ungewöhnliche Erhöhung der Temperatur in den Wohnungen und damit einhergehend eine Wärmestauung und vermehrte Wasserabgabe des in Windeln eingewickelten Säuglings mit eine Rolle spielen könnte. Beobachtungen über das Wohnungsklima im Hochsommer sind zuerst von Flügge<sup>2</sup>) in Berlin angestellt worden, von Meinert<sup>3</sup>) wurden ähnliche Messungen in Dresden während der Monate Juli und August 1887 ausgeführt. Die Versuchsanordnung Meinerts ist etwas verschieden von der Flügges. Meinert stellte die Thermometer 1 m über dem Fußboden in I. Stock-Wohnungen auf und konnte beim Vergleich mit der im Schatten gemessenen Außentemperatur feststellen, daß dieselbe von der Innentemperatur um 3,6-14,4°C, im Durchschnitt um 8,5°C, überschritten wurde. Genauere Beobachtung aller Umstände haben dann Meinert zu der Anschauung geführt, dass die hohen Temperaturgrade in den Wohnungen allein für die hohe Säuglingssterblichkeit im Sommer nicht der ausschlaggebende Faktor sein können, sondern daß in dieser Beziehung die Lage des Hauses mit eine große Rolle spiele. In seinem Aufsatz über die Cholera infantum aestiva hat Meinert4) auf die Wichtigkeit der Lage des Hauses für die Säuglingssterblichkeit noch ganz besonders hingewiesen und gezeigt, dass wenigstens nach seinen in Dresden gemachten Beobachtungen der Umstand schwer in die Wagschale falle, ob ein Haus von allen Seiten den Luftströmungen zugänglich ist oder Kann der Wind ungehindert alle Wände des Hauses bestreichen, so verlieren die hohen Innentemperaturen wesentlich an Gefährlichkeit für die Säuglinge.

Einer Aufforderung des Herrn Prof. Prausnitz gerne Folge leistend, habe ich nun in Wohnungen hiesiger Arbeiterfamilien, welche uns von den Vertrauensmännern der Krankenkassen als zuverlässig empfohlen wurden, Temperaturmessungen vorgenommen, und zwar wurden hierfür Familien ausgewählt, welche 94

Interesse an den Versuchen zeigten, und bei denen entweder dem Mann oder der Frau die Ablesung und Einstellung eines Maximum-Minimumthermometers anvertraut werden konnte. Durch häufige Kontrollen überzeugte ich mich, daß die Ablesungen richtig vorgenommen wurden.

Die Thermometer wurden so aufgestellt, daß sie nicht von der Sonne beschienen wurden, und daß sie vom Herd oder von Kaminen möglichst weit entfernt waren. Wenn es anging, wurden sie an einer Zwischenwand aufgehängt, sonst an einem sicheren Ort ca. 1 m über dem Fußboden aufgestellt.

Die für die Versuche ausgewählten Arbeiterwohnungen befinden sich mit Ausnahme des Sparherdzimmers der Familie S. A. in Häusern, an welche auf beiden Seiten angebaut ist. Das Haus mit der Wohnung der Familie ist vollkommen freistehend.

Zum Vergleich der Temperaturen in den Wohnungen schicke ich die Aufsentemperaturen im Monat August, so wie dieselben von der meteorologischen Station des physikalischen Instituts der Universität aufgezeichnet wurden, voraus.

Tag	Maximum	Minlmum	Tagesmittel	Tag	Maximum	Minimum	Tagesmitte
1.	29,2	17,0	24,0	17.	24,0	12,0	19,3
2.	30,0	15,9	23,7	18.	21,4	15,1	17,5
3.	28,3	17,0		19.	25,8	12,0	19,5
4.	28,3 31,2 31,5 22,0 22,0	16,2	22,8 24,2 24,3 18,4 17,5 17,4	20.	25,8 24,7 25,5	18,0	17,5 19,5 20,7
5.	31,5	16,1	24,3	21.	25,5	15,2	21.6
6.	22,0	15,8	18,4	22.	25.1	15,2	20,4
7.	22,0	11,2 9,7	17,5	23.	26,8	9.9	20,2 19,2 18,9 20,9
8.	23,1	9,7	17,4	24.	$\frac{26,8}{23,0}$	15,8	19,2
9.	25,1	12,0	19,4	25.	20,3	15,8 17,0 15,5	18,9
10.	27,4	13,8	21,2 20,6	26.	26,1	15,5	20,9
11.	27,3	14,1	20,6	27.	24,9	16,8	20,1
12.	17,0	13,0	15,5	28.	24,9 18,6	16,8 13,8 10,4	15,6
13.	19,5	9,4	15,0	29.	15,1	10,4	12,1
14.	20,4	8,2	15,5 15,0 16,0	30.	19,2	8,7	14,3
15.	22,0	9,8	16,7 18,1	31.	22,0	10,0	14,3 15,7
16.	23,6	10,2	18,1		1		

R. A. Dachwohnung, bestehend aus Zimmer und Küche. Das Zimmer, nach Süden gelegen, ist dreifenstrig und ungefähr quadratisch mit einer Seitenlänge von 4,5 m. Die Höhe beträgt ca. 3 m und nach Abrechnung

der Dachneigung besitzt das Zimmer einen Rauminhalt von ca. 40 cbm. In demselben schlafen 3 Erwachsene und 1 Kind von 2 Jahren. — Die Küche, nach Norden gelegen, ist 4,5 m lang, 2,5 m breit und 3 m hoch.

August	Maximum	Minimum	August	Maximum	Minimum
2.	29	23	16.	22	20
3.	30	24	17.	22	24
4.	29	24	18.	25	21
5.	29	26	19.	24	19
6.	32	23	20.	25	21
7.	26	20	21.	26	21
8.	23	20	22.	25	21
9.	23	23	23.	27	20
10.	26	22	24.	28	21
11.	27	24	25.	28	21
13.	27	20	27.	26	21
14.	22	19	28.	23	19
15.	24	21	29.	23	18

M. K. Wohnung, bestehend aus Zimmer und Küche, I Stock. Zimmer einfenstrig, nach Westen gelegen; 3,5 m lang, 2,5 m breit, 3 m hoch. Rauminhalt 26,25 cbm; in demselben schlafen während der Nacht die Eltern, der Kinder im Alter von 4-8 Jahren, der Säugling; unmittelbar daran anstofsend mit einem Fenster nach Osten die Küche mit denselben Dimensionen.

Juli	Maximum	Minimum	August	Maximum	Minimum
27.	26	26	19.	25	19
28.	26	25	20.	25	20
29.	26	23	21.	25	24
30.	25	25	22.	26	20
31.	27	24	23.	27	22
August			24	25	22
1.	28	28	25.	27	23
2.	27	27	26.	25	22
3.	28	25	27.	26	23
4.	29	25	28.	23	21
5.	30	29	29.	23	21
6,	26	23	30.	22	22
710.	24-25	23-24	31.	23	20
11.	26	23	September		
12.	26	21	1.	22	21
13.	22	22	2.	22	20
14.	22	20	3,	22	20
15.	24	20			

26

August	Maximum	Minimum	August	Maximum	Minimun
5.	28	25	19.	23	21,5
6.	29	24,5	20.	24	22
7.	25	22,5	21.	24	22
8.	24	21	22.	24	22
9.	24	21,5	23.	24	23
10.	25	22	24.	23,5	22
11.	25	23	25.	24	22
12.	24	23	26.	24	22
13.	22	20	27.	24,5	22
14.	22	20	28.	24	21
15.	22	20	29,	22	21
16.	22	20	30.	21	19,5
17.	23	21,5	31.	21	19
18.	23,5	21,5			

S. A. Dachwohnung, 4 m lang, 3 m breit, 1,9 m hoch; ein Fenster gegen Süden, ein Fenster gegen Osten, Kubikinhalt ca. 20 chm. In diesem Zimmer schlafen Mann, Frau und Säugling.

August	Maximum	Minimum	August	Maximum	Minimun
5.	24	19	11	19	18
6.	25	18	12.	17	15
7.	26	16	13	17	15
8.	20	15	14.	18	16
9.	21	15	15.	18	16
10.	22	18			

A. S. Wohnung im III. Stock, bestehend aus Zimmer und Küche Küche einfenstrig, Zimmer zweifenstrig, beide nach Süden gelegen. Küche 5,25 m lang, 3 2 m breit, 3,8 m hoch, Kubikinhalt ca. 60 cbm; Zimmer 3,8 m hoch, 5,25 m lang, 6,2 m breit, Kubikinhalt ca. 119 cbm. Im Zimmer schlafen zwei Erwachsene und drei Kinder im Alter von 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, 7 und 11 Jahren, in der Küche zwei Kinder, 13 und 14 Jahre alt.

Juli	Maximum	Minimum	August	Maximum	Minimur
27.	21	20	16.	20,5	18,5
28.	21,5	20,5	17.	20	19
29.	23	21	18.	20	19
30.	23	21	19.	20	17
31.	23,5	21	20.	21	18
August			21.	21,5	19
1.	23,5	21	22.	22,5	20
2.	24	21	23.	22	20
3.	24	22	24.	22	20
4.	24	22	25.	21	19
5.	24	22	26.	22	19
6.	25	22	27.	22	20
7.	23	21	28.	22	20
8.	21,5	21,5	29.	21	18
9.	21,5	21,5	30.	19	18
10.	22	21	31.	19,5	17
11.	22	20	September	i	
12.	22	17	1.	19,5	18
13.	20	18	2.	19	16,5
14.	20	18	3.	19	16,5
15.	20	18	4.	20	17,5

Überblicken wir die abgelesenen Temperaturen, so ergibt hinsichtlich der erreichten höchsten Wärmegrade die Dachwohnung der Familie R. A. die ungünstigsten Verhältnisse. Während fünf Tagen schwankt das Maximum zwischen 26 und 37°C, während das Minimum nicht unter 23° C sinkt. Relativ hohe Minima durch eine lange Reihe von Tagen weist auch die im I. Stock gelegene Wohnung der Familie M. K. auf. Während 16 Tagen sinkt die Temperatur nicht unter 23° C, wobei das Maximum einmal auf 30° C steigt. Trotz der Überfüllung und der südlichen Orientierung verhältnismäßig niedrig sind die Wärmegrade in der Wohnung der Familie A. S. und dürften diese günstigen Zahlen auf die fleifsige Benutzung gut schliefsender, dichter Rolläden zurückzuführen sein. Auch in der Dachwohnung der Familie S. A. sind die Temperaturen relativ niedrig und wird diese Tatsache wohl in dem bereits erwähnten Umstande seine Ursache haben, daß das Haus von allen Seiten den Windströmungen frei zugänglich ist.

Vergleichen wir die Maxima und Minima der die höchsten Temperaturen aufweisenden Wohnung der Familie R. A. mit den Tagesmitteln der meteorologischen Station, so ergibt sich die Beobachtung, daß einmal, am 6. August, das Mittel vom Maximum um 13.60 C überschritten wurde. Die Minima in dieser Wohnung sind während der ganzen Beobachtungszeit mit Ausnahme des 4. August immer höher als die Tagesmittel. Ahnlich liegen die Verhältnisse hinsichtlich der Minima und den Tagesmitteln in der Wohnung der Familie M. K. Auch hier ist das Minimum fast immer höher als das Tagesmittel im Freien. Daß so hohe Temperaturen, wenn sie überdies noch durch längere Zeit andauern, nicht bloß indirekt durch die rasche Keimvermehrung in der Milch, sondern auch direkt durch Wärmestauung und Wasserverlust den gesundheitlichen Zustand des in Wickeln befindlichen Säuglings ungünstig beeinflussen können, steht wohl aufser jeder Frage.

Zu den Nachteilen der keimreichen Milch gesellt sich dann noch die Schädlichkeit der verminderten Wärmeabgabe, und unter diesen Verhältnissen kann es nicht wundernehmen, daß, falls auch noch eine sorgfältige Pflege mangelt, besonders die Säuglinge, welche künstlich ernährt werden, den üblen Folgen der hohen Wohnungstemperaturen erliegen. Soll in dieser Richtung ein Wandel zum Besseren eintreten, so wird es bei den Kindern. welche künstlich ernährt werden, sich vor allem darum handeln. wenigstens eine der Schädlichkeiten, und zwar die der raschen Verderbnis der Milch möglichst hintanzuhalten. Nach den Beobachtungen, welche ich in den Familien der unteren Klassen zu machen Gelegenheit hatte, ist das Kühlhalten der Milch so gut wie unbekannt. Der Tagesvorrat wird meist morgens aufgekocht und hierauf zum Abkühlen ans Fenster oder in den Korridor gestellt. Ist die Kühlung genügend weit vorgeschritten, so kommt der Milchtopf in das Zimmer zurück oder wird in einer »Speis« aufbewahrt, in welcher die Temperatur womöglich noch höher ist als in der Wohnung. Daß bei einer solchen Behandlung und den hohen Wärmegraden im Sommer die Milch rasch verdirbt und bald Alles eher vorstellt als ein Nahrungsmittel für Kinder,

liegt in der Natur der Sache und gibt sich auch in den zahlreichen Magen- und Darmerkrankungen und Todesfällen der Säuglinge zu erkennen.

#### Literatur.

- 1) W. Prausnitz, Physiologische und sozialhygienische Studien über Säuglingsernährung und Säuglingssterblichkeit. München 1902, Verlag von J. F. Lebmann.
  - 2) C. Flügge, Beiträge zur Hygiene. Leipzig, Verlag von Veit & Co, 1879.
- 3) Meinert, Untersuchungen über den Einfluß der Lufttemperaturen auf die Kindersterblichkeit an Durchfallskrankheiten. Deutsche med. Wochenschrift 1888, pag. 491.
- 4) Meinert, Über Cholera infantum aestiva. Therapeutische Monatshefte, 1891, Hefte 10-12.

## IV. Über die Kühlhaltung der Milch im Hause.

Von

# Dr. M. Kaiser,

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.)

Ein Blick auf die Methoden der Milchkonservierung lehrt uns, das seit altersher zwei derselben eine Hauptrolle spielen, die sich sowohl auf einfache und leichte Handhabung, als auch auf die tatsächlich vorhandenen Erfolge stützen: die Erhitzung und die Kühlung der Milch.

Wenn auch in neuerer Zeit eine dritte Methode immer mehr in den Vordergrund rückt und namentlich seit Anwendung des Wasserstoffsuperoxydes vielfach anempfohlen wird, so können wir vorläufig doch davon absehen, da sie ja noch nicht zur Kenntnis der breiteren Volksmassen gelangt, noch nicht zur Allgemeingut geworden ist. Ich meine die >Desinfektion« der Milch. Die Überzeugung, dass mit der Milch sosort nach dem Eintreffen derselben im Hause etwas geschehen müsse, wodurch sie vor sicherem Verderben bewahrt wird, finden wir bei jeder beobachtenden Hausfrau, die Milch abkocht, bei jedem Milchbauer, der in seiner Wirtschast die kühlste Kammer des Hauses für die Ausbewahrung der Milchschüsseln reserviert. Für uns Städter liegt diese letztere Methode der Milchkonservierung leider viel serner als erstere, da nicht jedermann über eine genügend kühle Speisekammer versügt, ein Eiskasten aber für die meisten

sowohl durch seinen hohen Anschaffungspreis, als auch durch die stete Eiserfordernis zu einem unerschwinglich teueren Gerät wird.

So bleibt denn bisher dem armen Mann nur eine Art der Milchkonservierung in die Hand gegeben, das Abkochen.

Viele glauben damit für sich und ihre Kinder ihre volle Pflicht und Schuldigkeit getan zu haben, die Hitze zerstöre ja alle Keime, eine dem Geschmack auffallende Veränderung gehe ja mit dem Abkochen nicht einher. Leider ist dieser oft verhängnisvolle Irrtum noch außerordentlich weit verbreitet, und in den meisten Haushaltungen sehen wir abgekochte Milch in Töpfen, meist auch noch ungenügend zugedeckt in der Küche oder dem Wohnzimmer frei herumstehen. Welch enorme Veränderungen dabei mit der Milch vor sich gehen, hauptsächlich auf Grund der Tätigkeit der sich in den günstigen Zimmertemperaturen rapid vermehrenden sporenbildenden Bakterien, wissen wir seit Flügges klassischen Untersuchungen über die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung aus zahlreichen Arbeiten.

Bedeutete das heute weit verbreitete Soxbletverfahren auch einen ganz gewaltigen Schritt nach vorwärts, so wissen wir doch, dass damit noch nicht alles getan ist, was uns, namentlich aber Säuglingen, eine einwandsfreie Milch sichert. Die trotz der Erhitzung auf Siedetemperatur restierenden Bakterien können entweder bei langsamer Abkühlung der Soxhletmilch oder bei allmählicher Wiedererwärmung derselben durch höhere Zimmertemperaturen eine ganz beträchtliche Bereicherung erfahren, und die Verabreichung solcher keimreich gewordener Soxhletmilch wird für den Säugling nicht gleichgültig sein. Diese Erwägungen veranlafsten den Versuch, die Milch innerhalb von Temperaturgrenzen zu halten, welche einerseits das Gedeihen der Flüggeschen peptonisierenden Bakterien verhindern, anderseits eine wesentliche chemische Umänderung der Milch durch Einwirken zu hoher Temperaturen unmöglich machen sollten.

Es entstanden die Hauspasteurisierapparate. Im folgenden möge es mir gestattet sein, einen Überblick über die wichtigsten

derselben zu geben und an der Hand der Literatur nachzuweisen, inwieweit dieselben vor der Kritik Stand zu halten vermochten.

Im Prinzip sind die meisten Hauspasteurisierapparate gleich gebaut. Ein Blechgefäß, innen eine Isoliermasse um einen Behälter für das zu erwärmende Wasser.

Damit ist im wesentlichen auch der Apparat von Oppenheimer¹) beschrieben, der eine Asbestfüllung als Isoliermaterial besitzt. Ein Thermometer durch den Deckel in das Innere des Topfes gesteckt, gestattet ein Ablesen der jeweiligen Temperatur. Zum Gebrauch wird der Topf auf gelindes Herdfeuer gestellt, bis das Thermometer 75° C anzeigt, dann entfernt, jedoch in unmittelbarer Nähe des Herdes belassen. Nach einer halben Stunde ist das Pasteurisieren der Milch beendet. Die Temperatur soll dabei nie unter 70° gesunken sein. Das Angenehme an Oppenheimers Apparat ist also dadurch gegeben, daſs man Milch ohne weitere Kontrolle pasteurisieren kann. Der Autor empfiehlt dann eine Kühlung der Soxhlettflaschen im Eiskasten, allenfalls im oft zu erneuernden kalten Wasser.

Ähnlich konstruiert ist der Apparat von Weichardt²), nur fällt hier eine besondere Isoliermasse weg, sie ist durch Luft ersetzt. Heißes Wasser wird in den Innenraum gegossen und soll dabei die Milch durch ca. 1½ Stunden auf einer Temperatur von 65—68° C warm erhalten bleiben. Hier werden die Soxhletflaschen nicht einfach in das heiße Wasser eingestellt, sondern in durchlochte Blechkapseln eingefügt, welche bei der nachherigen Kühlung der Flaschen in kaltem Wasser, diesem nur allmählichen Zutritt gestatten, wodurch ein sonst nahezu unvermeidliches Springen vermieden wird. Das heiße Wasser wird nach vollendeter Pasteurisierung durch kaltes ersetzt, welches zum Zweck der Milchkühlung öfters erneuert werden muß.

Kobrak<sup>3</sup>) ersetzt den wärmehaltenden Doppelmantel der zwei beschriebenen Apparate durch Einwirkung einer konstanten Wärmequelle, indem er seinen Apparat über durch einen Spiritusbrenner zum Glühen gebrachte Dallikohlen stellt und die Glühhitze derselben durch 1½ Stunden auf das Wasser im Topf ein-

<sup>1)</sup> Literatur s. S. 47.

wirken läßt. Die weitere Behandlung der Milch besteht dann im Nachfüllen von kaltem Wasser und wiederholter Erneuerung desselben.

Eine kleine aber praktische Modifikation bedeutet der Apparat von Hippius<sup>4</sup>). Ein doppelwandiger Blechkessel mit einfachem Boden, die äußere Kesselwand denselben um Einiges überragend. Dieser Blechtopf wird auf einen Dreifuß gestellt, dessen obere Fläche mit einer durchlochten Plate gedeckt ist, dadurch wird unter dem Kessel eine Luftkammer geschaffen, welche vermittelst einer kleinen Petroleumlampe erwärmt, die Milch durch beliebige Zeit auf einer konstanten Temperatur erhalten soll.

Das Bestreben, derartige Hauspasteurisierapparate kompendiöser zu machen, veranlaßte die deutsche Thermophorgesellschaft zur Konstruktion eines Apparates, der die Wärmequelle in sich trägt und ohne jede weitere Kontrolle der Hausfrau die Arbeit des Pasteurisierens wesentlich erleichtern sollte.

Ein doppelwandiger Metalleimer birgt zwischen seinen Wandungen eine kristallinische Salzmasse die im wesentlichen aus unterschwefligsaurem Natron und essigsaurem Natron besteht. Wird der Thermophor laut Gebrauchsanweisung auf 8 Minuten in siedendes Wasser und hernach in eigene Isolatoren mit doppelter Metall- oder Pappwandung gestellt, so genügt angeblich die beim Auskristallisieren des durch das Kochen gelösten Salzgemisches freiwerdende Wärme, um den Innenraum des Eimers, und damit auch die in denselben eingestellte Milch durch Stunden auf einer höheren Temperatur zu erhalten. Von ausschlaggebender Bedeutung für die praktische Verwendbarkeit des Thermophors mußte erstens die Höhe der erreichten Temperatur und die Dauer des Anhaltens derselben sein.

Der Aufgabe, die Thermophore auf ihre Güte zu prüfen, unterzogen sich Frickenhaus<sup>5</sup>) und Kobrak<sup>5</sup>). Letzterer dehnte seine Versuche auf gekochte und zwar I. Marktmilch, II. künstlich mit Mist und Heustaub verunreinigte und III. auf eine mit peptonisierenden Keimen infizierte Milch aus, die durch rund acht Stunden im Thermophor, bzw. im Eisschrank und Thermostaten (33°) gehalten wurde.

Archiv für Hygiene, Bd. LVI.

# Ergebnis:

- ad I. Thermophor und Eisschrankmilch enthalten annähernd dieselbe Keimzahl, die Thermostatenmilch weist eine erhebliche Keimvermehrung auf.
- ad II. analoges Resultat.
- ad III. Im Thermophor eine unerhebliche Vermehrung der Keime, im Eisschrank keine, im Thermostaten beträchtliche Vermehrung.

Weitere Versuche lehrten, daß mit vegetativen Formen infizierte Milch, welche teils 15 Min. durchgekocht, teils nur aufgekocht in den Brutschrank gestellt wurde (33°) bei nachheriger Aufbewahrung im Thermophor eine beträchtlich niedrigere Keimzahl zeigte als die sofort in den Eisschrank gestellte Milch; daß also mit anderen Worten ein großer Teil jener Keime, die im Eisschrank auch nicht vermehrungs- so doch lebensfähig, im Thermophor abgetötet wurden.

Auch rohe Milch erwies sich, wie ja voraussichtlich, als weniger keimhaltig, wenn sie durch 6—8 Stunden im Thermophor gestanden; ebenso wurden günstige Resultate erzielt mit tuberkelbazillenhaltiger Milch.

Auf Grund dieser Versuche glaubt Kobrak den Thermophor mit gutem Gewissen anempfehlen zu können, verschließt sich aber nicht seinen Mängeln.

Zu ähnlichen Ergebnissen waren bereits vor Kobrak Dunbar<sup>6</sup>) und W. Dreyer<sup>7</sup>) gekommen: Der Milchthermophorkann unbedenklich für die Warmhaltung der für die Ernährung von Säuglingen bestimmten Milch empfohlen werden, vorausgesetzt, das die Milchproben nicht länger als 10 Stunden nach dem Erhitzen des Thermophors in letzterem belassen werden.

Nach Sommerfeld<sup>8</sup>) liefert der Thermophor binnen fünf Stunden keimfreie Milch, wobei dieselbe in beliebiger Art vorbehandelt werden kann. Ohne irgendwelchen Nachteil befürchten zu müssen, kann man also am Morgen auf die eine oder andere Art bereitete Kindermilch, die man während des Tages im kühlen Zimmer, oder wenn man sehr vorsichtig sein will, im Eisschrank aufbewahrt hat, am Abend in den Milchthermophor setzen und hat nachts keimfreie Milch zur Hand, ohne erst lange mit Spiritus- oder Gaskocher hantieren zu müssen.

Nicht unbedingte Anerkennung findet der Thermophor von seiten Du Mesnils<sup>9</sup>). Für rohe und pasteurisierte Milch ist der Thermophor nicht verwendbar, da die Keimzahl der in ihm konservierten Milch eine relativ hohe bleibt, wohl aber für vorher nach Soxhlet behandelte Milch.

Ebenso spricht sich Verney<sup>10</sup>) abfällig aus. Die von ihm untersuchten Apparate wiesen nur Maxima von 57,0°C, 55,5°C und 55,0°C auf, Temperaturen, bei denen von wirksamer Pasteurisierung keine Rede sein kann. Seine Versuche führen Verney dann auch zu folgenden Schlussätzen:

- Eine sichere Abtötung von pathogenen Mikroorganismen (Pyocyaneus, Diphtherie, Streptokokkus, Proteus, Koli, Tuberkelbazillus) in der Milch wurde trotz mehrstündiger Einwirkung des Thermophors nicht erzielt.
- 2. Die Zahl der in der rohen Milch enthaltenen Bakterien sinkt in den ersten 2—5 Stunden, steigt dann wieder, so das nach 8—9 stündiger Aufbewahrung im Thermophor die Bakterienzahl ungefähr so groß ist wie in der nicht erwärmten Milch.
- Die Bakterienflora der Milch wird durch die Einwirkung des Thermophors verändert; es verschwinden verschiedene Arten, während namentlich die peptonisierenden Bakterien bedeutend zunehmen.
- 4. Die 10—15 Minuten lang im Soxhletschen Apparat erhitzte Milch wird im Thermophor nicht vollständig sterilisiert. In der Regel steigt die Bakterienzahl schon nach 6 bis 7 stündiger Aufbewahrung im Thermophor beträchtlich.
- 5. Die von anderen Autoren erhaltenen günstiger lautenden Resultate lassen sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß die einzelnen von der Thermophorgesellschaft gelieferten Apparate nicht eine gleich hohe oder eine gleich lange dauernde Erwärmung gestatten.

 Auf Grund unserer Untersuchungen können wir die Anwendung des Milchthermophors für die Säuglingsernährung nicht empfehlen.

Hagemann<sup>11</sup>) vergleicht die Resultate der verschiedenen Autoren miteinander und illustriert an einer Tabelle die Brauchbarkeit der diversen Thermophore sehr übersichtlich. Es läßt sich daraus entnehmen, daß die Milch, wenn man die von Flügge<sup>12</sup>) angegebene Maximaltemperatur für die Wachstumsfähigkeit peptonisierender Bakterien ausgesprochener Thermophilie (54° C) als niedrigstes erlaubtes Minimum für einen halbwegs brauchbaren Thermophor zugrunde legen wollte,

nach Kobrack nur 21/2 Stunden

- Hagemann  $2^{1}/_{2}$  >
- » Frickenhaus 5 »
- » Dunbar und Dreyer ca. 6 Stunden

im Thermophor verbleiben dürfte. Dabei ist überdies noch zu bedenken, daß die Temperatur von 54°C eigentlich überschritten werden müßte, wenn man für alle Fälle eine wirksame Unterdrückung jeglichen Bakterienwachstums erzielen will.

Die Wachstumsbreite peptonisierender Bakterien mittlerer Thermophilie erstreckt sich von 24°—44° C. Über dieser Grenze erhalten sich die Thermophore nach den Untersuchungen von Hagemann durch ca. 2°/4, bzw. 3¹/4 und 6¹/4 Stunden, nach Kobrak durch 5, nach Frickenhaus durch ungefähr 8¹/2 Stunden.

Hagemann empfiehlt am Schlusse seiner Arbeit, die Dauer der Thermophorbehandlung der Säuglingsmilch nicht über 5 Stunden auszudehnen.

In der jüngsten Zeit wurde von S. Weifs¹³ ein Hauspasteurisierapparat, >Toutelaire«, welcher in England und Frankreich vielfach in Gebrauch sein soll, empfohlen. Seine Einrichtung ist im wesentlichen die aller übrigen Hauspasteurisierapparate. Er gewährt für 8 Flaschen Platz. Diese sind aus durchwegs gleichstarkem Glas gefertigt und gestatten nach dem Erhitzen auf 75°C eine rasche Abkühlung auf beliebig niedere

Temperaturen. Die Verwendung von nur einem halben Liter Wasser zur Dampfentwicklung erlaubt ein möglichst rasches Pasteurisieren bei gleichzeitigem geringen Wärmekonsum. Wenn wir uns nun umsehen in den verschiedenen Haushaltungen, so sollte es uns eigentlich wundern, daß von den vielen Systemen der Hauspasteurisierapparate sich kein einziges einzubürgern vermocht hatte. Finden wir hier und dort einmal einen solchen Apparat, so kann das noch nicht für seine Verbreitung sprechen. Woran mag das nun liegen?

Unleugbar sind solche Apparate erstens viel zu teuer, ihre Handhabung eine viel zu umständliche und die wirklichen Erfolge im Vergleich zu den Kosten zu geringe. Die verschiedenen Nachprüfungen haben uns gezeigt, daß wir uns auf derlei Apparate, wenigstens in ihrer jetzigen Form nicht verlassen können.

Erscheint somit der Hauspasteurisierapparat praktisch minder verwertbar, so bleibt noch eine Möglichkeit offen, die Milch im Hause vor Verderben zu bewahren, nämlich der Versuch, eine möglichst lange Kühlhaltung der beliebig vorbehandelten Milch.

Musste man das Eis als Kältequelle von vornherein ausschließen wegen seines verhältnismäßig hohen Preises, und war aus diesen Gründen an Erzeugung von Kältemischungen schon gar nicht zu denken, so erübrigte es nur noch, das Wasserleitungs- bzw. Brunnenwasser zur Kühlung heranzuziehen.

Ein Versuch, das Problem der Milchkonservierung im Hause auf diese Art und Weise zu lösen, ging vor kurzem aus dem Flüggeschen Institute hervor.

Speck <sup>14</sup>) unternahm es auf Anregung Flügges, kaltes Wasser als Kältequelle für die Milchkühlung im Hause heranzuziehen, und kam auf Grund verschiedener Vorversuche zur Konstruktion einer Kühlkiste, deren Beschreibung ich hier wiedergeben will.

Eine Kiste aus Tannenholz von etwa 44×44 cm Grundfläche und 32 cm Höhe wird 10 cm hoch mit Holzwolle gefüllt. Dann wird ein oben und unten offener Weißblechzvlinder von 24 cm Durchmesser und 20 cm Höhe hineingesetzt, und der Zwischenraum zwischen Kiste und Zylinder ebenfalls mit Holzwolle fest ausgestopft. Oben wird die Kiste mit einem Holzdeckel verschlossen, der ein der Weite des Zylinders entsprechendes Loch besitzt. In den Zylinder pafst genau ein Blechtopf mit gut schließendem Deckel von 6 l Inhalt, der an einem unter dem Boden durchlaufenden Riemen getragen werden kann.

Statt des Holzdeckels läst sich der Abschlus nach oben auch folgendermaßen bewirken: aus einem Stück dicken, welligen Stoffes (Fries oder dgl.) wird ein quadratisches Stück geschnitten, das nach allen Seiten um etwa 6 cm größer ist als der Boden der Kiste. Von der Mitte des Tuchstückes aus werden acht Einschnitte in radiärer Richtung gemacht, deren Länge dem Radius des angewendeten Blechzylinders entspricht. Dann wird der Blechzylinder herausgenommen, das Tuchstück auf die Oberfläche der Holzwolle gelegt, so daß die sektorenförmigen Lappen in den Hohlraum hineinhängen und nun der Blechzylinder wieder hineingesetzt. Der an den Seiten überstehende Stoff wird zwischen Kistenrand und Holzwolle hineingestopft.«

Speck gibt zahlreiche Versuche an, denen wir entnehmen können, dass sich die Idee, die Milch bei jenen Temperaturen zu halten, bei denen ein ausgiebigeres Keimwachstum noch nicht beginnt, leichter und bedeutend einsacher, auch um Vieles billiger realisieren lässt, als es im entgegengesetzten Falle, bei Konservierung der Milch in Temperaturen ober der Wachstumsgrenze thermophiler Bakterien der Fall ist.

Von gleichen Voraussetzungen wie Flügge ging Prausnitz aus, der im Winter 1904/05 eine ähnliche Kühlküste konstruieren liefs, die ich in folgendem des Näheren beschreiben möchte.

Eine Kiste aus weichem Holz in der Stärke von 1 cm (s. Figur) mit gut daraufpassendem Deckel (in Scharnieren beweglich) von den Außendimensionen: Länge = 38 cm, Tiefe = 28 cm, Höhe = 31 cm, ist in ihrem Innern mit Korksteinplatten in der Dicke von 4,5 cm ausgelegt. Der Korkstein, wie ihn die Firma Kleiner & Bockmayer in Mödling bei Wien liefert, ist eine Art Konglomerat von zerkleinerten Korkstücken, die durch ein teerartig

aussehendes Bindemittel miteinander verkittet sind. Er bildet in Platten von 3—6 cm Dicke eine derbe, elastische Masse vom spez. Gewicht ca. 0,23—0,25, die sich sehr leicht sägen läßt und für unsere Zwecke namentlich den einen Vorteil bietet, ein schlechter Wärmeleiter zu sein, weshalb er auch vielfach als Isolierschicht in Verwendung steht. Der Deckel des Kastens, welcher ebenfalls mit einer Korksteinplatte belegt ist, paßt sehr genau und bildet einen falzartigen Verschluß, der noch dadurch dichter gemacht wird, daß der obere Rand der Isolierschicht des Kasteninnern mit einem Filzstreifen oder mit wollenen Dichtungs-

schnüren, wie man sie für mangelhaft schließende Fenster verwendet, belegt ist. Die Kühlung wird durch zwei an den Schmalseiten angebrachte Zinkblechgefäße von den Dimensionen 18 cm Höhe, 16 cm Tiefe, 5,5 cm Breite und einem Inhalt von ca. 1½ 1 besorgt, welche mit Leitungs- bzw. Brunnenwasser gefüllt werden müssen. Durch einen



Stöpsel können diese Kühlgefäße völlig verschlossen werden. Der Innenraum der Kiste reicht genau für neun Soxhletflaschen aus. Durch zahlreiche Versuche hat es sich, wie später gezeigt werden wird, herausgestellt, daß diese Einrichtung nicht nur gut kühlhält, sondern auch leicht und reinlich handzuhaben ist.

Im Bedarfsfalle würde man also folgendermaßen verfahren:
Die Milch wird entweder roh oder nach Soxhlet gekocht
oder nur pasteurisiert, gekühlt, die Kühlgefäße mit Leitungswasser
resp. Brunnenwasser gefüllt, und hierauf die Flaschen in das
Kisteninnere eingestellt. Nach 8—9 Stunden wäre das Wasser
zu erneuern, falls noch Milch vorhanden ist und, will man noch
ein Übriges tun, die leeren Soxhletflaschen auch mit kaltem Wasser
nachgefüllt und in die Kiste gestellt. Während der Dauer der
Einrichtung bedarf die Kiste sonst keiner weiteren Beaufsichtigung,
sie kann nachts im Schlafzimmer stehen bleiben, die gewünschte

Temperatur hält sich gut. Da wir nachts ohnedies kein allzu hohes Ansteigen des Thermometers zu befürchten haben, so erweist sich der Wasserwechsel nach 8 oder 10 Stunden als völlig ausreichend. Tagsüber könnte derselbe ja öfter stattfinden, ohne besondere Belästigung der Hausfrau.

An der Hand der folgenden Tabellen soll gezeigt werden, wie sich die Kühlkiste bei verschiedener Versuchsanordnung bewährt, vergleichsweise sind in einzelnen Fällen auch andere Kühlmethoden ausprobiert worden.

Für unsere Versuche benutzten wir ein stark geheiztes Zimmer, dessen Temperatur genau kontrolliert wurde. Anfangs hielten wir dieselbe auf einer Höhe von ca. 25°C, welche der mittleren Zimmertemperatur in den Sommermonaten entsprechen dürfte. Spätere Versuche wurden bei höheren Temperaturen angestellt.

Vor jedem Versuch blieb die Kühlkiste durch 12 Stunden in dem geheizten Raum, um dadurch möglichst ungünstige Bedingungen für die Kühlung der Milch zu schaffen, und den natürlichen Verhältnissen näher zu kommen, welche es ja auch nicht erlauben würden, vorher eine Kühlung der Kiste vorzunehmen. Hierauf wurde die Milch gekühlt, die Kühlgefäse gefüllt in die Kiste gesetzt, und durch den Deckel in eine Milchflasche ein Thermometer eingeführt, dessen Temperatur in kürzeren Zeitintervallen abgelesen und vermerkt wurde.

Zur Erklärung der Tabellen möge im allgemeinen gesagt sein, daß je ein Intervall auf der Abszisse einem Zeitraum von fünf Minuten entspricht, die Daten der Ablesungen sind unten vermerkt. Auf die Ordinaten kommt je ein großes Intervall = 10 kleinen, einem Celsius-Grade gleich.

# Versuch Nr. 1.

Beginn des Versuchs 11. II. 05, 10 Uhr 20 Min. a. m.

Wasser und Milch vorgekühlt auf 11 °C. Die Kurven der Zimmertemperaturen — in der Mitte des Zimmers und an der Wand gemessen zeigen ein langsames Ansteigen von 24 °C bzw. 22,8 ° auf 27,2 bzw. 25,8, hernach langsames Absinken auf 26,0 bzw. 25,3.

Eine frei im Zimmer stehende Soxhletflasche mit Milch gefüllt zeigt einen hohen Temperaturanstieg von 11,6°C auf 20,4° in 2 Std. 20 Min., hierauf ein langsames Steigen auf die Höhe von 25,1 in weiteren 6 Std., dann einen geringen Abfall.

Die in der Kühlkiste gehaltenen Flaschen weisen in ihrer Temperatur einen allmählichen Anstieg von 11,2°C auf 17,2 auf und zwar in einem Zeitraum von 10 Std. 40 Min.

Ende des Versuchs 11. II., 9 Uhr p. m. Dauer 10 Std. 40 Min.

## Versuch Nr. 2.

Beginn des Versuchs 12. II. 05, 11 Uhr 15 Min. a. m.

Kühlwasser 9,5°, Milch auf 11° C vorgekühlt. Die Kurven der Zimmertemperaturen (Milte des Zimmers, Wandtemperatur) erst rasch, dann sehr sanft ansteigend auf 29,2° bzw. 22,0° C.

Die Milchtemperatur in einer freistehenden Soxhletflasche steigt von 9,4° bis 21°C in 10 Std. 15 Min. an, die in einem freistehenden Becherglas von ca. 750 ccm Inhalt von 10,1° bis 19,0°C.

Ein zweites Becherglas mit dem gleichen Quantum Milch in die Kühlkiste gestellt, ergibt folgende Milchtemperaturen:

In 30 Min. Absinken von der Anfangstemperatur (10,8°C) auf 9,7°, dann bis zum Schluß allmähliches Ansteigen auf 16,3. Die Milchtemperatur einer in der Kiste Nr. 2 eingekühlten Soxhletflasche erreicht nach anfänglichem geringen Sinken in 10 Std. 15 Min. nur die Höhe von 15,4°C.

Ende des Versuchs 12. II., 9 Uhr 30 Min., p. m. Dauer 10 Std. 15 Min.

#### Versneh Nr. 3.

Beginn des Versuchs 12. IV. 05, 9 Uhr 45 Min. a. m.

Sämtliche Mil<br/>chproben sowie beide Kühlkisten in Kühlwasser auf 9° C eingestellt.

Die Zimmertemperaturen halten sich durch 11 Std. 45 Min. auf ungefähr der gleichen Höhe (25°C), im Laufe der nächsten 12 Std. erfolgt ein laugsames Ansteigen auf 27,0°C in der Mitte des Zimmers gemessen; die Wandtemperatur ändert sich nicht. Die Temperaturkurve der Milch in einem freistehenden Becherglas zeigt anfänglich einen jähen Anstieg bis auf ca. 22°, um sich später abzuffachen; in den letzten 12 Std. ein minimaler Anstieg.

Ähnlich gestaltet sich die Temperaturkurve der Milch in einer freistehenden Soxhletflasche.

Becherglas und Soxhletflasche je in eine Kühlkiste eingestellt, halten die Temperatur durch 11 Std. 45 Min. auf 16,0° bzw. 15,7° C herabgedrückt, in den folgenden 12 Std. zeigt sich ein allmähliches Ansteigen auf 19,9° bzw. 20,3°.

Ende des Versuchs 13, IV., 9 Uhr 15 Min. a. in. Dauer 23 Std. 30 Min.

# Versuch Nr. 4.

Beginn des Versuchs 8. V. 05, 12 Uhr a. m.

Milch und Kühlwasser auf 11,0°C eingestellt. Die Zimmertemperaturen halten sich annähernd auf gleicher Höhe, 22°C.

Die Milch in der freistehenden Soxhletsflasche zeigt wie in den übrigen Versuchen anfangs einen jähen Anstieg in ihrer Temperatur, später nahezu gleichbletbende Höhe.

Im Kühlkasten erfolgt in der Soxhletflaschenmilch ein allmähliches Ansteigen von 11,0° C auf 16,0° in einem Zeitraum von 9 Std. 25 Min. in weiteren 12 Std. auf 19,2° C.

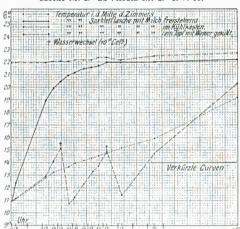


Tabelle Nr. 1. Zu Versuch Nr. 4. 8. V. 05.

Aus derselben Tabelle ist auch das Ergebnis eines Versuchs, die Milch in einem großen, 41 fassenden Blechtopf zu kühlen, dessen Kühlwasser zweimal in Intervallen von 3 zu 3 Std. gewechselt wurde, ersichtlich.

Die Soxhletflaschen zeigten erst rasches Ansteigen der Temperatur, nach Ersatz des warm gewordenen Wassers durch frisches zehngradiges einen jähen Abfall in ungefähr einer halben Stunde, hierauf wieder steilen Anstieg und nach dem Wasserwechsel raschen Abfall auf beinahe Kühlwassertemperatur.

Der letzte Anteil der Kurven ist auch hier reduziert wiedergegeben. Ende des Versuchs 9. V, 9 Uhr 30 Min. a. m. Dauer 21 Std. 50 Min.

## Versuch Nr. 5.

Beginn des Versuchs 27. VI. 05, 9 Uhr 35 Min. a. m.

Dieser Versuch bringt insofern eine Abwechslung, als die zwei Kühlgefäse hier entfernt und in das Kisteninnere eine genau passende Blechwanne mit Kühlwasser von 12,5° C eingesetzt wurde. Die Lufttemperatur in der Mitte des Zimmers hielt sich durch 25 Std. ungefähr auf 26°C. Die Milchtemperaturkurve einer in einem Topf (41) mit Wasser von 12,5° eingekühlten Soxbletflasche erreicht in ungefähr 11 Std. eine Höbe von 24,7°C und steigt in weiteren 13 Std. sehr flach auf 25,6°C.

Die in der Wanne eingekühlte Milch erwärmt sich sehr langsam von 12,6° anf 19,0° C (11 Std.), in weiteren 13 Std. 30 Min. bis auf 22,6° C.

Annähernd die gleiche Kurve bietet die Milchtemperatur in der zweiten Kühlkiste mit den zwei Kühlgefäßen (Kühlwasser = 12,5°C); nur bleibt hier die Temperatur durch 15 Std. etwas zurück.

Ende des Versuchs 28. VI., 10 Uhr a. m. Dauer 24 Std. 25 Min.

#### Versuch Nr. 6.

Beginn des Versuchs 22. VIII. 05, 11 Uhr 15 Min. a. m.

Anordnung: Zwei Kühlkisten. Die erste enthält einen Topf mit ca. 3 l Wasser von 14,8°C, die zweite birgt das Kühlwasser in den dazu konstruierten Blechgfafsen (Temperatur 14,8°C). In beide Kisten wird Milvon der Temperatur des Wassers in Soxhletflaschen eingestellt. Die Temperatur des Zimmers hält sich ziemlich auf der Höhe von 29,0°C.

Die Kurven der beiden Milchtemperaturen steigen langsam an, differieren jedoch um etwas über 1°C, nach 8 8td. 15 Min. hat die im Blechtopf eingekühlte Milch die Temperatur von  $20,0^{\circ}$ C erreicht, während die Temperatur der zweiten Milchprobe um  $1,3^{\circ}$ C zurück ist.

In ungefähr 20 Std. ist die Höhe von 24,2 bzw. 23,2° erreicht, die Differenz also 1° betragend.

Ende des Versuchs 24. VIII. 05. Dauer 19 Std. 30 Min.

#### Versuch Nr. 7.

Beginn des Versuchs 24. VIII. 05, 10 Uhr 30 Min.

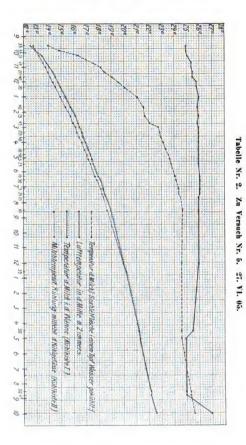
Anordnung: Von den zwei Kühlkisten wird die eine wie in dem vorigen Versuche belassen, in die zweite wird ein Topf gestellt, der ringsum mit Holzwolle umgeben wird. Anf den Topf kommt ein Brett und über dieses abermals eine dicke Lage von Holzwolle.

Kühlwasser und Milchtemperatur der Soxhletflaschen in den beiden Kisten  $15\,^{\circ}$  C.

Die Zimmertemperatur hält sich in der Höhe von ungefähr 29° C.

Der Versuch ergibt ein allmähliches Ansteigen der beiden Temperaturkurven, und zwar zugunsten der Methode mit den beiden Kühlgefaßen. In den Kisten mit den letzteren hält sich die Temperatur durch etwas über 8 Std. unter 20°C; in der Kühlkiste mit Holzwolle-Isolierung ist diese Temperatur nach ca. 6 Std. bereits überschritten. Nach 8 Std. 30 Min. ergibt sich eine Differenz von 21,6 auf 20,2°C zugunsten der Methode mit den beiden Kühlgefäßen.

Ende des Versuchs 24. VIII. 05, 7 Uhr p. m. Dauer 8 Std. 30 Min.



#### Versuch Nr. 8.

Beginn des Versuchs 25. VIII. 05, 10 Uhr 15 Min.

Anordnung wie im vorigen Versuch, nur wurde in diesem Falle die zu kühlende Milch vorher nach Soxhlet durch 10 Min. sterilisiert und hierauf eine Kühlung auf ungefähr 20°C vorgenommen.

Temperatur des Kühlwassers 15,0 ° C.

An dieser Stelle möchte ich bemerken, dass eine Abkühlung der Milch auf ziemlich niedere Temperaturen durchaus nicht längere Zeit beansprucht, vorausgesetzt, dass es sich um Abkühlung von Milch in Soxhletflaschen handelt.

Speck findet ein Abkühlen an der Luft auf 70 bis 76° für nötig, bevor er die Flaschen in das kalte Wasser stellt.

Weich hardt konstruierte, wie wir gesehen haben, engere Hülsen aus Blech, welche vielfach durchlocht sind, um ein nur allmähliches Eindringen des kalten Wassers zu gestatten, in welches sie jedoch sofort nach dem Sterilisieren eingestellt werden dürfen.

Diese Abkühlungsverfahren, deren eines viel zu lange Zeit in Anspruch nimmt, während das andere einen eigenen Apparat erfordert, ersetzten wir für Soxhletflaschen durch eine einfache Methode, die sich uns sehr bewährt hat.

Die samt dem Kochtopf vom Feuer genommene Milch, deren Temperatur 55-97° C ist, wird sofort unter die Wasserleitung gestellt, jedoch so, daß das Wasser erst langsam, dann immer rascher in den Topf und nicht direkt auf die Flaschen strömt. In längstens 10 Min. kann bei 15° Wasser eine Abkühlung auf diese Temperatur erzielt werden. Kann man die Wasserteitung zur Abkühlung nicht direkt benutzen, so giefst man unter den erwähnten Vorsichtsmaßrergeln aus einem andern Gefäß kaltes Wasser zu, welches man sofort wieder erneuert und durch ganz kaltes ersetzen kann. Dieses letztere Verfahren beansprucht etwas längere Zeit, jedoch keinesfalls mehr als 20 Min. Uns ist auf diese Weise keine Flasche gesprungen.

Die zwei derart auf 18,5 und 19,0 ° C abgekühlten Milchproben ergaben folgende Kurven :

Die Milch in der Kiste zeigt mit Holzwolle-Isolierung in 6 Std. nach raschem Absinken der Temperatur von 18,5 auf 17,1° in 20 Min., ein langsames Ansteigen auf 21,0, wobei die kritische Höhe von 20,0° in 4 Std. 35 Min. erreicht wurde. Die Milchtemperatur bei gewöhnlicher Kühlung (Kühlgefäse) zeigte ein weniger rasches Absinken, aber auch einen weniger steilen Anstieg. Die kritische Temperatur von 20,0° C wurde hier in 5 Std. noch nicht erreicht.

Die Zimmertemperatur hielt sich um 30° C.

Ende des Versuchs 25. VIII. 05, 4 Uhr 10 Min. p. m. Dauer 5 Std. 55 Min.

#### Versneh Nr. 9.

Beginn des Versuchs 30, VIII. 05, 10 Uhr 15 Min. a. m.

Anordnung: Erste Kühlkiste wie sonst. An Stelle der zweiten wurde nach den Angaben von Speck eine improvisiert, und zwar wurde in eine zewöhnlich Kiste aus weichem Holz von den Dimensionen 45 cm Länge, 35 cm Hohe, 31 cm Tiefe ein 7 1 fassender Blechtopf auf eine dicke Lage von Holzwolle in die Mitte derselben gestellt und der übrige freie Raum fest mit Holzwolle ausgestopft. In diesen Topf kam 15,0°C Wasser, in welches dann die ebenfalls auf diese Temperatur abgekühlte Milch eingestellt wurde. Als Bedeckung diente eine Filzplatte, auf die noch eine dicke Schichte von Holzwolle zu liegen kam. Abgeschlossen wurde die Kiste durch einen Deckel.

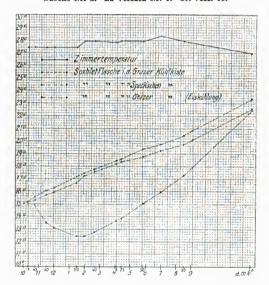


Tabelle Nr. 3. Zu Versuch Nr. 9. 30. VIII. 05.

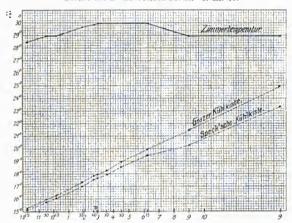
Beide Kisten wurden einer Durchschnittstemperatur von beiläufig 27,5° C ausgesetzt.

In eine dritte Kiste gab ich in die Kühlgefäße zu dem Wasser noch einige Stücke Eis, so daße eine Temperatur von  $5,0\,^{\circ}$  C resultierte.

Die Kurven der Milchtemperatur in der Kiste I (Kühlung mit Kühlgefaßen) wich nicht ab von den bereits öfters mitgeteilten Kurven. In ca. 9 Std. ist die Temperatur von 20,0° erreicht. Günstiger verhält sich die Temperatur in der Kiste mit Holzwolle-Isolierung; eine Erwärmung auf 20.0° erfordert in diesem Falle 10 Std. 45 Min.

Die Temperaturkurve der Milch aus dem dritten Kasten zeigte, wie ja nicht anders zu erwarten, zuerst einen Abfall (auf 12,5°C), hernach einen etwas jaheren Anstieg als die beiden anderen Kurven. In ungefähr 11 Std. war die Höhe von 18,0°C zu verzeichnen. Durch geringere Mengen von

Tabelle Nr. 4. Zu Versuch Nr. 11. 6. IX. 05.



Eis wird also die Temperatur nur vorübergehend herabgedrückt, doch die Dauer der Kühlung um Einiges verlängert.

Ende des Versuchs 31, VIII. 05, 6 Uhr a. m. Dauer 19 Std. 45 Min.

#### Versuch Nr. 10.

Beginn des Versuchs 1. IX. 05, 11 Uhr 15 Min. a. m.

Anordnung wie im vorigen Versuch; die dritte Kühlkiste mit den Eisstücken in den Kühlgefäßen bleibt aus.

Im wesentlichen ist dieser Versuch nur eine Bestätigung des vorigen.

## Versuch Nr. 11.

Beginn des Versuchs 6. IX. 05, 10 Uhr 15 Min. a. m.

Anordnung: Soxhletflaschen mit Milch in der Grazer Kühlkiste. Eine zweite Serie wird in die Specksche Kühlkiste eingestellt. Letztere ist genau nach den Angaben von Speck hergestellt. Wir wählten die einfachste Ausstattung, wobei der Blechzylinder wegblieb, der den Kühltopf umgibt. Die Zimmertemperatur hielt sich ungefähr auf der Höhe von 30°C.

Die Kurve der Milchtemperatur in ersterwähnter Kiste steigt in rund 22 Std. langsam von 15,3° auf 25,0° C und erreicht die Höhe von 20,0° in ungefähr 8 Std.

Etwas besser hielt sich die Temperatur in der Speckschen Kühlkiste. Sanfte Kurve von 15,2 bis 23,4° C; 20,0° C erreicht in 9 Std. 40 Min.

Fassen wir die Resultate dieser Versuche — es wurden deren nur einige hier aufgenommen — übersichtlich in einer Tabelle zusammen, so ergibt sich, daß eine Kühlhaltung der Milch unter einer Temperatur bis 20,0° C in den verschiedenen Fällen durch folgende Zeiträume gelingt.

(Siehe die Tabelle auf nächster Seite.)

Die kleinen Temperaturdifferenzen zugunsten der Speckschen Kültkiste erklären sich wohl daraus, dass in derselben die isolierende Schichte eine viel dickere ist. Ein Vorzug der Speckschen Kiste ist ihr geringer Anschaffungspreis, ein Nachteil die Kühlung im Wasser und die Verwendung von Holzwolle als Isoliermaterial. Diese verstäubt leicht, schmutzt und müste entweder mit Pappe oder dünnem Holz umgeben, vielleicht auch in Form von Polstern eingenäht werden.

Ein Vorteil der Prausnitzschen Kühlkiste ist das reine und saubere Hantieren mit derselben, die Flaschen brauchen nicht ins Wasser gestellt, es können auch andere Nahrungsmittel darin kühlgehalten werden, Fleisch, Butter, Früchte usw. Diese Vorteile müssen leider für die etwas höheren Anschaffungskosten erkauft werden. Die erwähnten geringen Temperaturdifferenzen liefsen sich leicht beheben durch Wahl eines größeren Formates.

Doch kommt es vorläufig darauf nicht an, hier handelt es sich lediglich darum, nachgewiesen zu haben, daß die Kühlmethode, wie sie von Flügge und Prausnitz angegeben wurde, nämlich die Verwendung von Wasserleitungs- bzw. Brunnenwasser zur Kühlung der Milch praktisch verwertbar ist, und mit ihr die

Übersichtstabelle über die Abkühlungsversuche.

Ort der Kühlung	Ver- suchs-	Anfa	ratur	Zimmer- temperat.	Dauer des Ver-	End- temp. der	Temperatu von 20,0 °
	Nr	d. Kühl- wassers	der Milch	f. Mittel	suches	Mileh	erreicht in
Kühlkiste mit den		• C	0 C	ungef. ° C		o C	
2 Kühlgefäßen.	1	11,0	11,4	26,0	10 h 40'	17,2	-
do.	2	9,0	11,0	21,0	10 • 15'	15,4	-
do.	3	9,0	9,0	25,0	23 , 30'	19,9	1 —
do,	4	11,0	11,0	22.0	21 > 50'	19,2	-
do.	5	12,5	12,8	26,0	24 , 25'	22,6	14 h 25'
do	6	14,8	14,8	29,0	19 > 30'	23,2	ung. 10 h
do.	7	15,0	15,0	29,5	8 > 30'	20,2	· 8 ·
do.	8	15,0	19,0	30,0	5 > 55'	20,2	> 5 >
do.	9	15,0	15,2	27,5	19 > 45'	23,4	, 9,
do.	10	15,5	15,9	27,0	20 > 45'	23,6	» 10 »
do.	11	15,0	15,3	30,0	22 > 45'	25,0	» 8»
Kühlkiste; d. Kühl- gefäße ersetzt durch eine das Kisteninnereaus- füllende Blech- wanne mit Was- ser; Soxhletfla- schen in diesem stehend	5	12,5	12,6	26,0	24 • 25′	22,6	14 h 25'
durch ein. Blech- topf mit Wasser Kühlkiste; Blech- topf mit Wasser,	6	14,8	14,8	29,0	19 > 30'	24,2	8 > 15'
umgeben v. Holz- wolle	7	15.0	15,0	29,5	8 > 30'	21,6	5 > 45'
Wie die vorige	8	15,0	18,5	30,0	5 > 55'	21.0	4 , 35'
Kühlkiste nach	0	111,0	10,0	30,0	0, 00	21,0	1,00
Speck	9	15,0	15,2	27,5	19 • 45'	22,6	10 > 40'
Wie die vorige	10	15,5	15,8	27,0	21 > 45'	22,0	11 > 35'
Wie die vorige	11	15,0	15,2	30,0	22 • 45'	23,4	9 40'
Soxhletflasche in einem Topf Was- ser (freistehend)		14,0	14,0	26,0	24 > 25'	25,6	2 > 45'
Keine Kühlung; Soxhletflaschem. Milch steht frei							1
auf dem Tisch .	1	-	11,6	26,0	10 • 40'	24,6	
Wie oben	3	- 1	9,0	25,0	23 • 30'	25,1	→ 1 → 50°
Wie oben	4	(I —	11,0	22,0	21 > 15'	22,2	2 > 50'

Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

verständige Hausfrau ein nicht zu unterschätzendes Mittel zur Konservierung der Milch in der eigenen Wirtschaft in die Hand bekommt.

# Literatur.

- Oppenheimer, Über das Pasteurisieren der Milch zum Zwecke der Säuglingsernährung. Münchener med. Wochenschr., 1899, Nr. 44.
- 2) Weichhardt, Die Behandlung der Milch im Haushalt. Die Milch und ihre Bedeutung für Volkswirtschaft und Volksgesundheit, dargestellt im Auftrage der wissenschaftlichen Abteilung der allgemeinen Ausstellung für hygienische Milchversorgung, Hamburg, 1903.
  - 3) Kobrak,
- 4) Hippius, Ein Apparat zum Pasteurisieren der Milch im Hause. Deutsche med. Wochenschr., 1901, Nr. 29.
- 5) Frickenhaus, Der Thermophor von Szczawinski und seine Anwendung in der ärztlichen Praxis. Deutsche med. Wochenschr., 1894, pag. 634.
- 6) Kobrak, Die Bedeutung des Milchthermophors für die Säuglingsernährung. Zeitsehr. f. Hyg., 1900, pag. 518.
- Dunbar und Dreyer, Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. Deutsche med. Wochenschr., 1900, Nr. 26
- 8) Sommerfeld, Über die Verwendung des Milchthermophors. Berliner klin. Wochenschr., 1900, Nr. 41.
  - 9) Du Mesnil.
- Verney, Über den »Milchthermophor«. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, pag. 646.
- Hagemann, Über die Wirkung des Milchthermophors. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, pag. 640.
- 12) Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 17. pag. 272.
- Weifs, Mitteilungen d. Gesellsch. f. inn. Medizin u. Kinderheilkunde in Wien, 1905, Nr. 12.
- 14) Speck, Kühlkisten für Kühlung der Säuglingsmilch im Hause. Deutsche med. Wochenschr., 1905, Nr. 32.

# V. Über die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch

Von

# Dr. M. Kaiser,

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.)

In seiner Arbeit über ide Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung« betont Petruschky als Erster das numerische Übergewicht der Streptokokken in der Milch anderen Bakterien gegenüber und weist auf die Bedeutung dieses Befundes in der Ätiologie der Sommerdiarrhöen hin.

Die Ergebnisse seiner Untersuchungen, welche teils Anerkennung, teils aber, und dies namentlich von Kinderärzten lebhaft bezweifelt wurden, sollten für uns zum Gegenstand von Nachuntersuchungen werden.

Bevor ich jedoch auf unsere Versuche zu sprechen komme, möge es mir gestattet sein die durchaus nicht zahlreichen und sehr zerstreuten Berichte über Befunde von Streptokokken im Kurzen zusammenzufassen.

Axel Holst<sup>1</sup>) der gelegentlich einer kleinen Epidemie von akuter Gastroenteritis sich der Mühe unterzog, die Milch in Christiania auf Streptokokken zu untersuchen, fand daß der Befund derselben ein normaler sei.

<sup>1)</sup> S. Literatur S. 88.

Belley H. L.<sup>2</sup>) zitiert einen Fall, in dem sich in dem Euter einer Kuh durch über drei Wochen ein Streptokokkus konstatieren ließ, obwohl an dem Tier keine Spur einer Mastitis nachzuweisen war. Daß die Milch eines solchen Tieres, zu anderer beigemengt, namentlich im Sommer größere Quantitäten Milch zu infizieren vermag und dazu besonders in großen Molkereien die beste Gelegenheit gegeben ist, liegt auf der Hand

Escherich<sup>8</sup>) berichtet über Streptokokkenbefunde wie folgt;

»In der Tat gelang es in jeder der von uns untersuchten Milchproben, eine allerdings sehr wechselnde Zahl gramisch färbbarer Kokken zum Teil noch in deutlichen Ketten angeordnet nachzuweisen, wenn wir das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment auf Objektivträger ausbreiteten und nach vorgängiger Entfettung mit unserer Färbemethode tingierten. In der Regel waren die blauen Kokken, die der Zahl nach viele überwiegenden Mikroorganismen und nur wenig Stäbchen daneben sichtbar. Wir fanden die Kokken sogar in den unter besonderen Kautelen gegen Verunreinigung von außen gemolkenen Milch, so daß der Gedanke nahe liegt, dieselben könnten vielleicht in ähnlicher Weise wie die Staphylokokken beim Menschen in den Milchausführungsgängen der Kühe vorhanden sein«. »Durch vergleichende Untersuchungen der bei kühler und warmer Temperatur aufbewahrten Milchproben wurde weiterhin konstatiert, daß die Streptokokken sich in den bei höherer Temperatur gehaltenen Proben sehr viel rascher vermehrten. Die Injektion solcher Milchproben tötete in mehreren Fällen die weißen Mäuse unter dem Bilde der Septikämie. Aus dem Blute und den Organen wurden die Streptokokken gezüchtets,

Eastles') liefs sich 185 Milchproben aus allen Teilen Englands, teils von Ärzten, Privatleuten, Molkereien, teils von hygienischen Instituten kommen und fand ca. 75,2% Streptokokken, in 15% fehlten diese, in 9,8% war der Befund ein zweifelhafter.

Ebenso fand Hellens Streptokokken wiederholt in der Marktmilch

Jäger<sup>5</sup>) untersuchte den durch Zentrifugieren gewonnenen Milchschlamm der Königsberger Marktmilch und fand, ›dafs ganz aufserordentlich häufig Streptokokken in der Milch vorkommen.«
Jäger konnte auch die Pathogenität dieser Streptokokken nachweisen.

Bergey<sup>6</sup>) fand in 50<sup>6</sup>/<sub>0</sub> der untersuchten 40 Marktmilchproben Streptokokken. Auch in den Milchproben verschiedener Molkereien wurden solche wiederholt angetroffen.

Reed und Ward<sup>7</sup>) untersuchten die Milch einer Kuh die klinisch keine Anzeichen einer Mastitis bot und fanden lange Zeit hindurch wiederholt Streptokokken. In diesem Falle erwiesen sich die Kettenkokken als unschädlich für Meerschweinchen und Kaninchen, jedoch, auf das gesunde Euter überimpft, erzeugten sie eine Mastitis.

Über einen ähnlichen Fall berichten Lameris und van Harrevelt<sup>9</sup>): Die steril entnommene, normal aussehende Milchprobe einer Kuh, deren Mastitis seit einigen Tagen anscheinend abgelaufen war, enthielt in einer ½ Öse noch unzählbare Individuen eines feinen Streptokokkus, welcher weder für Meerschweinchen noch Kaninchen pathogen war.

H. W. Conn<sup>9</sup>) stellte in seinen Versuchen fest, daß in frischer Milch die Mehrzahl der Bakterien aus Streptokokken besteht, die in den meisten Fällen direkt vom Euter der Kuh stammen. Während der ersten 48 Stunden findet eine bedeutende Zunahme der Streptokokken statt, worauf sie abnehmen, um schließlich zu verschwinden.

Verdiente Würdigung fanden die Streptokokken der Milch erst durch Petruschky <sup>19</sup>), der in der eingangs erwähnten Arbeit über die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge als Erster das numerische Verhältnis der Kettenkokken anderen Milchbakterien gegenüber an einer größeren Versuchsreihe klarlegte. >Bei den im Sommer 1903 untersuchten Milchproben überwog der Gehalt an Kettenkokken so außerordentlich alle übrigen

Bakterienkeime der Milch, dass die Gesamtmenge aller übrigen Keime, einschliefslich der Säurebildner, nur den zehnten bis hundertsten Teil der nachgewiesenen Streptokokkenkeime betrug«. Eine Tabelle aus Petruschkys Arbeit illustriert diese Verhältnisse sehr schön.

	Bei	20 ° C	Bei	10 ° C
	Säurebildner	Streptokokken	Säurebildner	Streptokokken
Anfangs	1-10	300	1-10	300
Nach 2 Std	-	1 000	1-10	1 000
· 5 · .	10-100	10 000	10-100	1 000
<b>16</b> .	1 000	100 000	10-100	1 000
> 20 · .	3 000	_	10-100	10 000
• 24 • .	16 000	10 000 000	10-100	30 000
· 48 · .	1 000	100 000	300	30 000
. 4 Tagen	(Milch	geronnen)	100	1 000

Im Zustande der Einlieferung enthält die Milch noch weniger als zehn säurebildende Bakterien pro ccm, aber doch schon etwa 300 Streptokokken, nach 24 Stunden ist ihre Zahl bei 20° C auf 10 Millionen also um ungefähr das 33 000 fache, die der säurebildenden Mikroben auf 10000, also nur um das 100 fache angestiegen.

Die Befunde Petruschkys sind auf lebhaften Widerspruch gestofsen, namentlich bei Schlofsmann 11), der in der 4. Sitzung der Gesellschaft für Kinderheilkunde zu Breslau sowohl die sachliche Richtigkeit der Petruschkyschen Untersuchungen als auch ihre Deutung heftig kritisierte.

Im vorigen Jahre stellte Petruschky nämlich die Behauptung auf, dass sich in der Milch im Hochsommer massenhafte Streptokokken, viele Millionen im ccm, befänden. inzwischen hat der gleiche Autor eine Schrift erscheinen lassen: Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit einer Verhütung.« Hierin wurden uns eine ganze Reihe neuer und interessanter Momente enthüllt. So, dass die Streptokokken alle übrigen Bakterien in der Milch um das Zehnfache überwiegen, daß man schon im einfachen Präparat direkt aus der Milch fast immer eine mehr oder weniger erhebliche Anzahl von Streptokokken finde.

Dass sich Streptokokken vereinzelt in der Milch finden, ist eine bekannte Tatsache. Aber keinem von uns Kinderärzten ist bisher vorgekommen, dass er eiterähnliche Milch, abgesehen natürlich bei Mastitis, gesehen hat.

Ich habe mich nun im Laufe des vergangenen Sommers mit dieser Frage eingehend beschäftigt und auch in der wenig appetitlichen Milch nichts von solchen Streptokokkenmassen gefundens.

>Es gibt also nur zwei Möglichkeiten, um die Mitteilung Petruschkys zu erklären, entweder es herrschte zur Zeit, als er seine Untersuchungen anstellte, in der Umgebung von Danzig unter den Kühen eine verbreitete infektiöse Mastitis, oder etwa, und das erscheint mir das Wahrscheinlichere, Petruschky ist einem Irrtum zum Opfer gefallen, der allerdings nicht so fernliegend erscheints.

Ich habe nämlich gefunden, dass die Milchsäurebakterien unter bestimmten Bedingungen eine Evolutionsform zeigen, in der sie täuschend Streptokokkenketten in ihrem Wachstum ähnelne. Bei eingehender Prüfung kann man aber zwischen je zwei nebeneinanderliegenden Kokken einen ungefärbten Teil erkennen und bei geeigneter Weiterzucht kommt die alte Stäbchenform und die Eigenschaft, intensiv Säure zu produzieren, wieder zum Vorschein. Von wirklichen Streptokokken ist in der Milch aber nur selten etwas zu findene.

Seiffert<sup>12</sup>) bestätigt das zeitweise Auftreten von Streptokokkenarten, bestreitet aber deren Pathogenität. Auch will Seiffert die Streptokokken bei seinen Untersuchungen der Leipziger Marktmilch bei weitem nicht so oft angetroffen haben als Petruschky in der Danziger Milch.

In der an die Sitzung sich anschließenden Diskussion führte Petruschky seine Resultate bestätigende Nachprüfungen 56

Czaplewskis an, ebenso wird durch Rabinowitsch 13) ein häufiges Vorkommen von Streptokokken in der Milch bejaht.

Die Streptokokken kommen wenigstens in Berlin sowohl in der gewöhnlichen Marktmilch wie in den verschiedenen Kindermilchsorten, die zu einem höheren Preise in den Handel gelangen, in ganz beträchtlicher Anzahl vor«. Mehrere Arbeiten aus der tierärztlichen Hochschule in Bern »weisen nach, dass die Streptokokken nicht nur von euterkranken Kühen selbst herrühren, sondern vornehmlich von dem Stallboden und Stalldünger (Torf und Streu). Woher die Streptokokken auch stammen mögen, sie sind meines Erachtens ebenso der Berücksichtigung wert wie die anderen in der Milch vorkommenden pathogenen Mikroorganismen c.

Brüning 14) berichtet über Untersuchungen der Leipziger Milch. Er fand unter 20 Kuhmilchproben 18 mal Streptokokken in Mengen von 10 bis 100 Millionen; sie waren sowohl im Ausstrichpräparat als in der Kultur nachweisbar. Der aus der Kuhmilch gezüchtete kurzgliedrige Streptokokkus erwies sich als nicht pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen.

Die Streptokokkenbefunde in der Milch, mit denen Petruschky, wie wir gesehen haben, nicht allein dasteht, forderten zu einer Nachprüfung an der Milch von Graz sowie deren Umgebung auf.

Gleich die ersten Proben, die zur Untersuchung gelangten, bestätigten uns das außerordentlich zahlreiche Auftreten von Kettenkokken, teils in den letzten Verdünnungen ausschließlich auftretend, teils vergesellschaftet mit Kokken, Stäbchen- oder Involutionsformen. Nur ein geringer Prozentsatz erwies sich als streptokokkenfrei, wie in den folgenden Tabellen gezeigt werden wird.

(Siehe die Tabelle auf S. 57 u. 58.)

# Vertellung der Streptokokken in der Milch.

Da	tur.	n	Bezeichnung der Milch	Keimzahl, er- mittelt durch die Petruschky- sche Methode (pro ccm)	Mikroskopischer Befund der letzten Verdünnung
22. 3	XI.	. 04	Vollmilch aus einer großen Molkerei	100 000	Ausschließlich Strepto- kokken
23.	,	,	do.	100 000	do.
23.	,	,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer großen Mol- kerei	100 000	Strepto und Staphylo- kokken
24.	,	>	do.	100 000	Strepto und Staphylo- kokken, wenig Stäbchen
24.	,	>	Vollmilch aus einer großen Molkerei	1 000 000	Ausschliefslich Strepto- kokken
26.	,	>	do.	10 000 000	do.
26.	,	,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer großen Mol- kerei	1 000 000	do.
29.	,	,	do.	1 000 000	Ausschliefslich Staphylo- kokken
29.	>	,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer kleineren Mol- kerei	10 000 000	Vorwiegend Streptokok- ken, wenig Kokken und Stäbchen
29.	,	,	Vollmilch aus einer kleineren Wirtschaft	100 000	Streptokokken und Stäb- chen
1. 2	ΧI	[.>	do.	10 000 000	Stäbchen und Strepto- kokken
1.	,	,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer großen Mol- kerei	10 000 000	Stäbchen und Strepto- kokken
5.	,	,	Vollmilch aus einem kleinen Gut	1 000 000	Fast ausschliefsl. Strepto- kokken, einzelne Sta- phylokokken
14.	,	,	Kindermilch aus einem kleinen Gut	100 000	do.
15.	>	,	Kindermilch »sterilisiert« ans einer großen Mol- kerei	100 000	Ausschliefslich Staphylo- kokken
15.	,	,	Vollmilch aus einem großen Gut	1 000 000	Nur Streptokokken
20.	,	,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer großen Mol- kerei	1 000 000	Streptokokken und Stäb- chen in Verbänden

Datum	Bezeichnung der Milch	Keimzahl, er- mittelt durch die Petruschky- sche Methode (pro eem)	Mikroskopischer Befund der letzten Verdünnung
5, I. 05	Vollmilch aus einem kleinen Bauerngut	1 000 000	Kokken, einzelne Sar- cine
24. > >	Vollmilch aus einer großen Molkerei	1000 000	Streptokokken, einzelne Involutionsformen
25. , ,	Kindermilch »sterilisiert« aus einer großen Mol- kerei	1 000 000	Ausschliefslich Strepto- kokken
28. > >	do.	1 000 000	Stäbchen in Reinkultur
9. II. •	Vollmilch aus einer Milchgenossenschaft	100 000 000	Meist Streptokokken, ein- zelne Traubenkokken
20. III. >	Vollmilch vom Milch- bauer	10 000 000	Vorwiegend Streptokok- ken, einzelne Stäbchen
22. , ,	Milch vom Händler	1 000 000	Kokken, Stäbcheu
29. > •	do.	1 000 000	Stäbchen
7. IV. >	Vollmilch vom Milch- bauer	100 000	Stäbchen, Kokken, Strep- tokokken
14. > >	Vollmilch vom Händler	100 000	do.
12. V. >	do.	1 000 000	Stäbchen
24. > •	do.	10 000 000	Streptokokken, spärlich Stäbchen
27. VI.→	do.	10 000 000	Streptokokken

Der Nachweis der Streptokokken geschah nach Petruschkys Verdünnungsmethode.

Der Inhalt des letzten der angegangenen Rührchen (also die stärkste Verdünnung) wurde mikroskopiert und zwar im hängenden Tropfen und der Befund verzeichnet.

Von 30 Proben zeigten 8 in der letzten Verdünnung ausschliefslich Streptokokken = 26,6%.

15 Streptokokken und andere Bakterien = 50 %.

7 Proben erwiesen sich als streptokokkenfrei = 23,8%.

Das ergibt also einen Gesamtbefund von 76,6 proz. Streptokokken.

Es ist uns nicht entgangen, dass sich in manchen Kulturen sanst geschlängelte Ketten mit sehr kurzen Stäbchen befanden, die sich oft über mehrere Gesichtsfelder erstreckten, daß oft auch mittellange oder ganz kurze Verbände von solchen auftraten, die allenfalls als Streptokokken hätten angesprochen werden können.

Wir stellten die Diagnose auf Streptokokken nur in völlig unverdächtigen Fällen, bei ganz unverkennbaren Typen mit ganz runden Einzelgliedern, vielfach, oft knäuelartig verschlungene Ketten, die unzweifelhaft als Streptokokken bezeichnet werden mußten, auch bei starker Vergrößerung.

Unsere Streptokokken, die wir monatelang jede Woche einmal überimpften und neuerdings in hängende Tropfen auf ihre Form und Lagerung hin untersuchten, sind niemals zu Stäbchen geworden, niemals konnten wir irgendeine morphologische Veränderung an ihnen wahrnehmen. Auch könnte uns der Vorwurf nicht treffen, wir hätten etwa eine Polfärbung verkannt und ein Stäbchen für zwei Individuen angesehen, da wir die Diagnose auf Streptokokken stets aus dem hängenden Tropfen machten.

Von nicht minderem Interesse als die quantitative Feststellung der Streptokokken in der Milch im Einlieferungszustande war, mußte die Frage sein, wie sich die Kettenkokken bei längerem Aufbewahren bei verschiedenen Temperaturen verhalten; ob eine allmähliche Überwucherung durch andere Keimarten stattfindet oder ob sie die ganze Aufbewahrungszeit hindurch sich in der Milch zu halten vermögen. Diese Verhältnisse sollen durch nachfolgende Versuchstabellen illustriert werden.

Wir bedienten uns bei diesen Versuchen eines von Petruschky angegebenen Verfahrens zur Bestimmung der Keimzahl.

Petruschky verdünnt die zu untersuchende Milch in Erlenmeyerkölbehen, die 50 ccm steriles Wasser enthalten und zwar beschickt er das erste Kölbehen mit 0,5 ccm Milch; aus dem zweiten wird nun wieder 0,5 ccm in ein drittes usw. Kölbehen übertragen, woraus eine Verdünnung der Milch in Potenzen von 100 erfolgt. Durch geeignetes Interpolieren, welches man durch Einsaat verschieden großer Mengen der verdünnten Milch

in Bouillonröhrchen erreicht, bekommt man eine Serie von Verdünnungen der ursprüuglichen Milch, die dann sofort in den Brutschrank gestellt werden, um die Bakterienkeime zur Entwicklung zu bringen. Das eigentliche Zählen besteht dann lediglich darin, daß man nach 24 Stunden (Petruschky) nachsieht, in wie vielen Röhrchen die Bouillon getrübt ist.

Die untersuchte Milch stammte zum Teil von Händlern, zum Teil wurde dieselbe direkt vom Milchbauer bezogen; stets hielt sich ihr Fettgehalt und ihr spezifisches Gewicht innerhalb normaler Grenzen, niemals konnten makroskopisch irgendwelche Ungehörigkeiten entdeckt werden. Ihr Geschmack war stets ein guter.

In den nachfolgenden Tabellen finden wir als Kopf die Herkunft der Milch, in der ersten horizontalen Rubrik die Temperatur angegeben, bei welcher die Milch aufbewahrt wurde, in den vertikalen Spalten die Zeit der Untersuchung in Stunden nach dem Einstellen in den Brutkasten, bzw. Kühlwasser, in dem nächsten Stab den Grad der Verdünnung in Potenzen von 10, hierauf den makroskopischen und mikroskopischen Befund der Bouillonkultur, letzterer aus dem hängenden Tropfen.

(Folgen die Tabellen auf S. 61-82.)

Milch vom Händler, geholt am 22. III. 05.

Zois	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 10° C	Gehalten	Gehalten bei 25° C
non.	nung	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
O Stunden, sofort nach	1:10	O Stunden, 1:10° Starke diffuse Trübung, sofort nach weises Häutchen, reich ich Bodensatz	Stabchen, teilweise in Verbunden, Kokken		
treffen unter		1:10° Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, teilweise in Verbänden, Involutions- formen, einzelne Strepto- kokken		
	1:10	do.	Kokken, Stabchen		
	1:10	6	6		
	1:10	в	θ		
Nach 4 Stunden	1:10	1: 10 Mafeige diffuse Trubung, reichlicher Bodensatz	Meist große Kokken, Stabchen, Involutions- formen, einzelne Ketten kokken	Intensive Trübung, eebr viel Bodensatz	Staphylokokken, einzelne Stabchen und Strepto- kokken
	1:10	op	Stabchen, Kokken, spar- lich Kettenkokken	do.	do.
	1:10	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Stabchen, Kokken, Streptokokken	Mafsige diffuse Trübung, reichlich Bodensatz	Stabchen, teilweise in Verbänden. Involutions
	1 103	6		Schleier, wenig Bodensatz	formen, Streptokokken
	1:10	\$	0	•	0
	$1:10^{9}$	•	0	0	•

Zait	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 10°C	Gehalten	Gehalten bei 14°C
	Bunu	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 20 Stdn.	1:10	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen
	1 : 105	op	Stabchen	do.	Stabchen, Kokken, Streptokokken
	1:106	Schleier, wenig Boden- satz	Kokken	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Kokken, Stabchen
	1:107	0	θ	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Stabchen
	1:108	θ	9	9	θ
	1:109	<b>6</b> 0	Œ	•	•
Nach 24 Stdn.	1: 10	Geringe Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- Bodensatz	Stabchen, Kokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, Bodensatz reichlich	Stabchen u. Kokken
	1:106	do.	Stabchen, Kokken, spar- liche Streptokokken	do.	do.
	1:106	do.	do.	do.	Stabchen, Kokken, ein- zelne Streptokokken
	1:107	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Plumpe, kurze Stabchen	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Stabchen, große Kokken
	1:108	0	•	Schleier, Spur von Bodensatz	Stabchen
	1:109	•	•	e	9

7.5	Ver	Gehalten	Gehalten bei 18°C	Gehalten bei 22° C	bei 22° C
Tierr	Bunu	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 4 Stdn.	1:104			Starke Trübung, zartes Häutchen, reichlich Bodensatz	Stäbchen
	1:106			do.	Stabchen, Kokken
	1:106			Schleier, wenig Boden-	Stabchen, Kokken
	1:107			Schleier, Spur von Bodensatz	Stabchen
	1:108			0	0
	1:10%			\$	6
Nach 8 Stdn.	1:104	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, einzelne Streptokokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stalychen
	1:105	do.	Stabchen, Kokken, Streptokokken	do.	Stabchen
	1:106	do.	do.	Geringe Trübung, Bodensatz spärlich	Stabchen, Kokken
	1:10	Schleier, wenig Boden- satz	Involutionsformen	do.	Kokken
	1:108	69	•	0	θ
	1:109	9	9	•	9

7000	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 18°C	Gehalten	Gehalten bei 22°C
Tierr	Sunu	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopiseher Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 12 Stdn.	1. 104	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, wenig Kokken	Starke Trübung, zartes Hautchen, reichlich Bodensatz	Stabchen, Kokken, ein- zelne Streptokokken
	1:105	ı	ı	do.	do.
	1:106	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen	do.	do,
	1:107	Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, Involutions- formen, Kokken	Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, einzelne Kokken
	1:108	do.	Streptokokken, wenig Stabchen	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Streptokokken
	1:10%	æ	0	Schleier, Spur von Bodensatz	Involutionsformen
Nach 16 Stdn.	1:10	Starke Trübung, zartes Häutchen, reichlich Bodensatz	Stabchen u. Kokken	Starke Trübung, zarles Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen u. Kokken
	1:10	do.	do.	op	do.
	1:106	Schwache diffuse Trü- bung, wenig Bodensatz	do.	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Kokken, spar- lich Streptokokken
	1:107	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen	Schleier, Spur von Bodensatz	Involutionsformen, spär- lich Streptokokken
	1:108	9	0	Starke Trübung, reich- lich Bodensatz	Stabchen, Kokken
	1:109	θ	0	0	2

Stabchen, Kokken, spär- lich Streptokokken	do.	Stabchen, sparlich Kok- ken	Stabchen	Stabchen u. Kokken	Stabehen	Stabchen, Kokken	Stabchen, Kokken, ein- zelne Streptokokken	Stabchen u. Kokken	Stabchen, Kokken, ein- zelne Streptokokken	Stabchen	30	
Starke Trübung, zartes Hautchen, viel Boden- satz	Starke Trübung, dickes Häutchen, wenig Boden- satz	Starke Trubung, zartes Hautchen, viel Boden- satz	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	do.	do.	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	do.	Geringe Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	do.	Bouillon klar, minimaler Bodensatz	do.	
Stabchen	Stabchen u. Kokken	Stabchen	Dicke Stabchen	•	θ	Stabchen u. Kokken	do.	do.	Stäbchen	do.	do.	
1:104 Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	do.	Geringe Trübung, zartes Häutchen, Bodensatz reichlich	Schleier, wenig Boden- satz	0	0	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- eatz	do.	Schwache Trübung, zartes Häutchen, viel Bodensatz	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	do.	do.	
5	1:106	1:106	1:107	1:108	1:109	1: 104	1:106	1:106	1:107	1:108	1:109	
Nach 20 Stdn.						Nach 24 Stdn.						

Milch vom Händler, geholt am 24. V. 05.

Zait	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 10°C	Gehalten	Gehalten bei 14°C
	Suno	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Sofort nach 1:104 dem Eintreffen	1:10	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz.	Stabchen Kokken, spar- lich Streptokokken		
untersucht	1:105	Starke Trubung, reich- lich Bodensatz	do.		
	1:10	1:106 Bouillon klar, Spur von Stabchen, Streptokokken Bodensatz	Stabchen, Streptokokken	-	
	1:107	do.	Streptokokken, spärlich Stabchen		
	1:108	6	0		
	1:109	\$	=		
Nach 4 Stunden	1:101	1:101 Starke Trübung, zartes Häutchen, Bodensatz reichlich	Stabchen, Kokken	Starke Trübung, Spur von Häutchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken
	1:106	Starke Trübung, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spär- lich Streptokokken	Starke Trübung, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken, spär- liche Streptokokken und Involutionsformen
	1:106	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Streptokokken, Involutionsformen	Schleier, Spur vom Bodensatz	Streptokokken, Stabchen Kokken
	1:107	1:107 Schleier, Spur von Boden- satz	do.	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Involutionsformen, Streptokokken
	1:108	•	=	6	•
	1:109	=	5	0	0

Nach 8 Stunden	1:10	1:101 Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken, Streptokokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, Bodensatz reichlich	Stabchen, Kokken
	1:106	do.	Kokken, Stabchen, einzelne Streptokokken und Involutionsformen	do.	do.
	1:106	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, meist in Ver- bänden, Kokken, Strepto- kokken und Involutions- formen	Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, Kokken, spar- liche Streptokokken, Involutionsformen
	1:107	do.	Fast nur Involutions- formen, einzelne Stäbchen und Streptokokken	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Streptokokken
	$1:10^{8}$	0	9	6	9
	1:109	5	2	6	•
Nach 12 Stunden	1:10	Starke Trübung, dickes weißes Häutchen, reich- lich Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spär- lich Streptokokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken
	1:106	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Bodensatz	do.	do.	Stabchen, Kokken, spar- lich Streptokokken
	1:106	Schleier, wenig Boden- satz	Kokken, spärliche Stäb- chen und Streptokokken	Starke Trübung, reich- lich Bodensatz	Stabchen, Kokken, Invo- lutionsformen, wenig Streptokokken
	1:107	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Involutionsformen und Stäbchen	Schleier, wenig Boden- satz	Kokken, Spur von Strep- tokokken und Stabchen
	1:108	θ	9	9	8
	1:109	•	\$	œ	35.

Zeit	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 10°C	Gehalten	Gehalten bei 14°C
	Bunu	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 16 Standen	1:10	Starke Trübung, weißes Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken, wenig Streptokokken	Starke Trubung, zartes Hautchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken, spar- liche Streptokokken
	1:10	Schwache Trübung, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken, Involutionsformen, spär- lich Streptokokken	do.	do.
	1:10	Starke Trübung, weifees Häutchen, viel Boden- satz	do.	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, meist in Ver- banden, sparliche Streptokokken
	1:107	do.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken	Schleier, geringer Boden- satz	Stabchen, Kokken, Streptokokken, Invo- lutionsformen
	1:108	1:108 Bouillon klar, krümeliger Bodensatz	Streptokokken	do.	Streptokokken und Involutionsformen
	1:109	•	•	•	6
Nach 20 Stunden		Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Boden- satz	1:10 Starke Trübung, weisee Stäbchen, Kokken, spär- Häutchen, viel Boden- liche Streptokokken satz	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken
	1:106	do.	Streptokokken und Involutionsformen	do.	Stabchen, Kokken, einzelne Streptokokken
	1:106	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	do.	do.	do.
	1:107	do.	do.	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Involutions- formen, Streptokokken
	1:108	1:108 Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Einzelne Stabchen und Streptokokken	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Streptokokken und spär- liche Stabchen
	1:109	•	9	•	0

en, Kok do. en, Koki Streptol Streptol en, Kok iformen, treptoko treptoko	Standen   Hautchen, Trobung, zartee   Stalchen, Kokken, end   Standen   Hautchen, viel Boden   Iiche Streptokokken   Iiche Streptokokken   Stalchen Kokken, reich   Stalchen Kokken, reich   Stalchen Kokken, Invo   Stalchen Streptokokken   Iiche Streptokokken   Iiche Streptokokken   Iiche Streptokokken   Stalchen Kokken, Invo   Stalchen Streptokokken   Iiche Streptokokken   Iich
1:109   Starke Trbbung, zarkes   Siabchen, Kokken, spar-   1:106   Geringe Trbbung, zarkes   Stabchen, Kokken, rich-   1:107   Hautchen, viel Boden   lich Streptokokken     1:107   Stabchen, Kokken, Invo-   1:108   Boden   Stabchen, Kokken, Invo-   1:109   Bodensatz   Stabchen, Kokken   Streptokokken     1:109   Generatz   Stabchen, Kokken   Streptokokken   Streptokokken   Streptokokken   Streptokokken   Generatz   Gener	hen, hen, hen, sfor Strep

Zoit	Ver-		9	rehalten	Gehalten bei 18°C	Gehalten	Gehalten bei 22° C
neg	nung	Makroskopischer Befund	pischer	Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach Stunden	1:104	Nach 1:10 <sup>4</sup> Starke Trübung, zartes Stunden Häutchen, viel Boden- eatz	dbung,	, zartes Boden-	Stabchen, Kokken, Streptokokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden-	Stabchen, Kokken
	1:105		do.		do.	Schwache Trubung, zartes Häutchen, Boden- satz	Stabchen, Kokken, Streptokokken spärlich
	1:106	1:10c Schleier, wenig Boden	wenig satz	Boden	Stabchen, Kokken, Streptokokken, Involu- tiousformen	do.	Kokken, einzelne Strepto- kokken, Involutions- formen
	1:107		do.		Streptokokken, Involu- lutionsformen	Streptokokken, Involu- Bouillon klar, Spur von lutionsformen Bodensatz	Streptol
	1:108		0		9	do.	Streptokokken
	1:109		9			0	

78 V. Über die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch.

Zeit	Ver-	Gehalten	Gebalten bei 18°C	Gehalten	Gehalten bei 22°C
	Яшпи	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund	Makroskopischer Befuud	Mikroskopischer Befund
Nach 8 Stunden	1:104	Starke Trubung, zartes Hautchen, reichl. Bodens.	Stabchen, Kokken, spar- liche Streptokokken	Starke diffuse Trubung, zartesHäutch., viel Bodens	Stabchen, Kokken, spär- liche Streptokokken
	$1:10^{6}$			do.	
	1:106	Geringe Trübung, dickes weifses Häutchen, viel Bodensatz	Kokken, Streptokokken, spärliche Stäbchen	Geringe Trübung, zartes Häutchen, wenig Boden- satz	Stabchen, Involutions- formen
	1:107	Schleier, Spur Boden- satz	Stabchen meist in Ver- banden, Involutions- formen, spärliche Strepto- kokken	Geringe Trübung, Spur von Bodensatz	Stabchen, Kokken, Involutionsformen, Streptokokken
	1:108	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Streptokokken, Stabehen Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Bouillon klar, Spar von Bodensatz	Streptokokken
	1:109	- 2	θ	8	θ
Nach 12 Stunden	1:10	Starke Trubung, dickes weifses Hautchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken	Starke Trubung, weifses Hautchen, viel Boden- satz	Stabchen, Kokken
	1:105	do.	Stabchen, Kokken, Streptokokken	Starke Trübung, reich- licher Bodensatz	Stabchen, Kokken, wenig Streptokokken
	1:106	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Kokken, einzelne Streptokokken und Involutionsformen	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Boden- satz	do.
	1:107	Schleier, wenig Boden- satz	Streptokokken, Stabchen, Kokken	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Kokken, Involutionsformen, Streptokokken
	1:108	do.	Streptokokken	Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, Kokken, Streptokokken
	1:109	θ	0	9	θ
Nach 6 Stunden	1:10	-	Stabchen, Kokken, spär- liche Streptokokken	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Boden- satz	Kokken, Stäbchen, Streptokokken
	1:10	Starke Trübung, wenig	do.	do.	do.

Nach 16 Stunden	1:106	Geringe Trübung, weifses Hautchen, wenig Boden- satz	Stabchen, Kokken, Involutionsformen, Streptokokken	Starke Trübung, weifses Hautchen, viel Boden- satz	Kokken, Stabchen, Streptokokken
	1:107	Schleier, wenig Boden- satz	Involutionsformen und Streptokokken	Kokken, Stäbchen, Involutionsformen, spär- liche Streptokokken	Schleier, wenig Boden- satz
	1:108	do.	Streptokokken und Stäbchen	Stäbchen, Streptokokken	Bouillon klar, Spur von Bodensatz
	1:109	0	0	Streptokokken	do.
Nach 20 Stunden	1:10	Starke Trübung, weifees Häutchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken
	1:106	do.	do.	Schwache Trübung, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken, Streptokokken
	1:106	do.	Stäbchen, Kokken, Invo- lutionsformen, spärliche Streptokokken	do.	Stabchen, Kokken, Invo- lutionsformen, Strepto- kokken
	1:107	1:107 Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Involutions- formen, spärliche Strep- tokokken	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Streptokokken, Stabchen
	1:10	Schleier, wenig Boden- satz	do.	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	do.
	1:109	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Streptokokken, Stabchen spärlich	do.	do.
Nach 24 Stunden	1:10	Starke Trübung, zartes Hautchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken	Starke Trübung, zartee Häutchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken
	1:106	do.	do.	Starke Trübung, weifses dickes Häutchen, viel Bodensatz	Stabchen, Kokken, einzelne Streptokokken
	1:106	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	Stabchen, Kokken, einzelne Streptokokken	Schleier, wenig Boden- satz	Streptokokken, einzelne Stabchen
	1:107	Schleier, wenig Boden- satz	Streptokokken, Stab- chen	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Stabchen, Streptokokken
	1:10	Bouillon klar, wenig Bodensatz	do.	do.	Stabchen meist in Ver- banden, Streptokokken
	1:10%	do.	do.	do.	Stabchen, einzelne Streptokokken

Milch, am 27. VI. vom Händler geholt.

Zoit	Ver-	Gehalten bei 22°C	oei 22 ° C	Gehalten	Gehalten bei 26°C
	nung	Makroskopischer Befund	Mikroskopiecher Befund	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
ofort nach	1:10	Sofort nach 1:10 <sup>4</sup> Geringe diffuse Trübung dem	Stabchen		
Eintreffen untersucht	1:106	do.	Stabchen, Kokken, Streptokokken		
	1:106	do.	Kokken, einzelne Streptokokken		
	1:107	1:107 Bouillon klar, Spur eines Bodensatzes	Streptokokken		
	1:108	•	œ		
	1:10%	69	•		
Nach Stunden	1:10	Starke Trübung, Spureines Häutchens, reich- lich Bodensatz	Stabchen, Kokken	Mafeige Trubung, zartee Stabchen, Kokken, spar- Hauchen, reichlich liche Streptokokken Bodensatz	Stabchen, Kokken, spaliche Streptokokken
	-1:105	1:105 Starke Trübung, Boden- satz gering	do.	do.	do.
	1:10	Schleier, Bodensatz	Kokken, Streptokokken spärliche Stabchen	Schwache Trübung, wenig Bodensatz, Spur eines Hautchens	Stäbchen, Kokken, Involutionsformen, Streptokokken
	1:107	Bouillon klar, wenig Bodensatz	Involutionsformen Kokken	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Kokken, Stäbchen
	1:10%	θ	0	9	90
	1:109	60	œ	•	Œ

Stabchen, Kokken, Streptokokken	do.	Kokken, wenig Stabchen, einzelne Streptokokken	Kokken, Stabchen, meist in Verbanden, Strepto- kokken	do.	0	Stabchen, Kokken, spar- liche Streptokokken	do.	Stabchen, Streptokokken, Kokken, Involutions- formen	do.	Streptokokken, Kokken	Streptokokken, Stabchen teilweise in Verbänden
Starke Trübung, Häut chen, Bodensatz	do.	Schleier, wenig Boden- satz	do.	Bouillon klar, wenig Bodensatz	θ	Starke Trübung, zartes Hautchen, reichlich Bodensatz	do.	do.	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	do.	do.
Stabchen, Kokken	Stabchen, Kokken, Streptokokken	do.	do.	Streptokokken, Kokken Stabchen meist in Ver- banden		Stabchen, meist in Ver- Starke Trübung, zartes banden Hautchen, reichlich Bodensatz	Kokken, Stabchen, spar- lich Streptokokken	Stabchen, Kokken, Streptokokken, Invo- lutionsformen	Kokken, Stabchen, Streptokokken, Invo- lutionsformen	Streptokokken, Invo- lutionsformen, sparlich Stabchen	3
Starke Trübung, reich- lich Bodensatz, zartes Häutchen	do.	do.	Schleier, Spur eines Häutchens, wenig Boden- satz	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	*	Starke Trübung, reich- licher Bodensatz, zartes Häutchen	do.	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	1:107   Schleier, wenig Boden-	do.	30
1:10	1:106	1:106	1:107	1:10%	1:109	1 104	1:106	1:106	1:107	1:108	1:109
Nach 8 Stunden						Nach 12 Stunden					

Zeit	Ver-	Gehalten	Gehalten bei 22° C	Gehalten	Gehalten bei 26 °C
	nunk	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Refund	Makroskopischer Refund	Mikroskopischer Befund
Nach 16 Stunden	1:10	Starke Trübung, zartes Hautchen, viel Boden- satz	Stäbchen, Kokken, spär- lich Streptokokken	Starke Trübung, zartes Hautchen, viel Boden- satz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken
	1:106	do.	do.	do.	do.
	1:106	do.	do.	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Fast nur Stabchen, einzelne Kokken
	1:107	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	do.	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Stabchen, Kokken, Streptokokken
	1:10	do.	Kokken, Stabchen, einzelne Streptokokken	Schwache Trübung, weifses runzeliges Häut- chen, viel Bodensatz	Stabchen mit zentral ge- legenen Sporen, sowie freie Sporen
	1:109	do.	Streptokokken	θ	в
Nach 20 Stunden	1 : 104	Starke Trübung, zartes Hautchen, reichlich Bodensatz	Stabchen, Kokken, spär- liche Streptokokken	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Boden-	Stabchen, Kokken, Streptokokken
	1:105	do.	do.	do.	do.
	1:106	Schleier, Spur von Bodensatz	Stabchen, Kokken, ein- zelne Involutionsformen	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	do.
	1:107	do.	Stabchen, sparliche Streptokokken	Schleier, wenig Boden- satz	Stabchen, Kokken, spär- liche Involutionsformen und Streptokokken
	1:10	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Stabchen, Streptokokken	Bouillon klar, Spur von Bodensats	Kokken, spärliche Streptokokken
	1:109	6	θ	0	θ

Milch, am 27. VI. vom Händler geholt.

Zeit	Ver-	Gehalten	bei 80° C
Zeit	nung	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 4 Stdn.	1:104	Starke Trübung, viel Boden- satz, zartes Häutchen	Stäbchen, Kokken, wenig Streptokokken
	1:105	do.	do.
	ի 1 : 106	Geringe Trübung, wenig Bodensatz, Spur eines Häut- chens	Stäbchen, Kokken, Invo- lutionsformen, Strepto- kokken
	1:107	do.	do.
		Bouillon klar, wenig Boden- satz	do.
	1:109	8	9
Nach 8 Stdn.	1:104	Starke Trübung, zartes Häut- chen, reichlich Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spärliche Streptokokken
	1:106	do.	do.
	1:106	Geringe Trübung, wenig Bodensatz	do.
	1:107	Schleier, wenig Bodensatz	Kokken Stäbchen, Invo- lutionsformen
	1:108	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spärlich Streptokokken
	1:109	θ	θ
Nach 12 Stdn.	1:104	Starke Trübung, zartes Häut- chen, viel Bodensatz	Stäbchen, auch viele Ver- bände, Kokken
	1:105	Starke Trübung, weißes dickes Häutchen, viel Boden- satz	Kokken, Stäbchen, Strepto kokken
	1:106	Schleier, wenig Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spärlich Streptokokken
	1:107	Bouillon klar, wenig Boden- satz	do.
	1:108	do.	Stäbchen, Kokken, spärlich Involutionsformen und Streptokokken
	1:109	θ	θ
Nach 16 Stdn.	1:104	Geringe Trübung, weißes zartes Häutchen, wenig Bodensatz	Stäbchen, Kokken, spärlich Streptokokken
	1:105	do.	Stäbchen, Kokken
	1:106	Schleier, wenig Bodensatz	Stäbchen
	1:107	Geringe Trübung, weißes runzeliges Häutchen, wenig Bodensatz	Stäbchen mit zentral ge- legenen Sporen, freie Spore

84 V. Über die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch.

Zeit	Ver-	Gehalten	bei 80 ° C
Zeit	nung	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
Nach 16 Std.	1:108	Bouillon klar, weißes runze- liges Häutchen, wenig Bodensatz	Stäbchen mit zentral ge- legenen Sporen, freie Sporen
	1:109	Bouillon klar, weißes zartes Häutchen, Spur von Boden- eatz	do.
Nach 20 Stdn.	1:104	Schwache Trübung, reich- lich Bodensatz, runzeliges Häutchen	Stäbchen, spärliche Strepto- kokken, freie Sporen
	1:105	Schwache Trübung, wenig Bodensatz, runzeliges Häut- chen, sehr zart	Stäbchen, Kokken
	1:106	do.	Stäbchen, freie Sporen
	1:107	Bouillon klar, Spur von Bodensatz	Streptokokken, Stäbchen, auch zahlreiche Verbände
	1:108	do.	Stäbchen
	1:109	θ	0

Um die Einsicht in die vorangegangenen Protokolle etwas zu erleichtern, füge ich noch nachfolgende kleine Übersichtstabellen bei, aus denen in der ersten Rubrik die Stundenzahl der Bebrütung, in der zweiten die Keimzahl in Potenzen von 10, in der dritten der höchste Verdünnungsgrad, in dem noch Stäbchen gefunden wurden, in der nächsten Rubrik dasselbe für Kokken und Streptokokken zu ersehen ist.

Milch vom Händler geholt am 22. III. 05. Nr. I.

		10 ° C					25 ° C		
Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto-
0	106	106	106	105	-		_	_	_
4	106	106	106	106	4	107	107	106	107
7	107	107	107	106	7	108	108	106	107
15	107	107	106	106	_	_		_	_
22	107	107	107	107	-	_	_		i
40	108	107	105	108	-	_	-	_	-

Die Rubriken, welche durch größere Zwischenraume abgetrennt sind, weisen darauf hin, daße es sich um geronnene Milch handelt.

Es würden also, wenn wir die letzte horizontale Rubrik erläutern sollten, nach 40stündigem Aufenthalt der Milch in einer Temperatur von 10°C in 1 ccm derselben mindestens 10<sup>8</sup>, also weniger als 10° Keime enthalten sein, und zwar finden sich in der letzten Verdünnung (10°) nur Streptokokken, Stäbchen sind bis zu einer Verdünnung von 10°, Kokken bis zu einer solchen auf 10° anzutreffen.

Milch vom Händler geholt am 29. III. 05. Nr. II.

		10 ° C					25 ° C		
Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto
0	106	106	105	105	0	_	_	_	_
5	107	106	107		5	108	106	108	108
8	106	106	106	_	- 8	109	108	107	109
12	107	107	106	104	121)	-	_		_

Milch vom Milchbauer geholt am 7. IV. 05. Nr. III.

		10° C			25 ° C					
Stunden	Keim- zahl	Stabchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto	
0	105	105	105	105	0	_	_	_		
5	106	105	105	_	5	106	105	106	106	
8	105	104	_	105	8	107	107		107	
12	106	105	106		12	107	107	107	107	

Milch am 14. IV. 05 vom Händler geholt. Nr. IV.

		10 ° C			25 ° C					
Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stabchen	Kokken	Strepto kokken	
0	105	105	105	105	0	_	_	_	_	
5	105	105	105	105	5	107	105	107	107	
8	105	105	105	105	8	108	108	106	108	
12	105	104	105	105	12	108	107	106	10%	
24	106	105	106	106	24 3)		- 1	_		

<sup>1)</sup> Geronnen, wurde nicht untersucht.

<sup>2)</sup> Geronnen, wurde nicht untersucht.

Milch am 12. V. 05 vom Händler geholt. Nr. Va.

		10° C			14 ° C					
Stunden	Keim- zahl	Stabchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto	
0	106	106	106	_	0	_	_	_	_	
4	106	106		_	4	106	106	105	106	
8	106	105	105	_	8	106	105	106	-	
12	107 1)	105	105	105	12	107	105	_	107	
16	106	105	104	-	16	107	106	105	105	
20	106	105	106	104	20	107	107	106	105	
24	107	107	106	10 <sup>6</sup>	24	108	108	107	106	

Milch am 12. V. 05 vom Händler geholt. Nr. Vb.

		18° C			22° C					
Stunden	Keim- zahi	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto-	
0	_	-	_	_	0	_	_	_	_	
4		_		-	4	107	107	106	_	
8	107	106	106	106	8	107	106	107		
12	108	108	107	108	12	109 2)	107	107	10	
169)	107	107	106	_	16	108	108	106	107	
20	107	107	105	-	20	109	109	108	105	
24	109	109	106	-	24	108	108	107	107	

Milch am 24. V. 05 vom Händler geholt. Nr. VIa.

			10 ° C			14 ° C					
Stunder	1	Keim- zahl	Stäbehen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto	
0		107	107	105	107	0	_	_		_	
4		107	107	105	107	4	107	106	106	107	
8	30	107	107	105	107	8	107	106	106	107	
12		107	107	107	106	· 12	107	107	107	107	
16		108	107	107	108	16	108	107	107	108	
20		108	108	107	108	20	108	108	106	108	
24	(1	108	107	107	108	24	108	104	106	108	

In den Verdünnungen 106 inkl. 107 fanden sich ausschliefslich Involutionsformen.

<sup>2)</sup> In der letzten Verdünnung ausschließlich Involutionsformen.

Milch am 24. V. 05 vom Händler geholt. Nr. VIb.

		18° C			22 ° C				
Stunden	Keim- zahl	Stabchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahi	Stäbchen	Kokken	Strepto
4	107	106	106	107	4	108	105	106	108
8	108	108	106	108	8	108	107	107	108
12	108	107	106	108	12	108	108	108	108
16	108	108	106	108	16	109	108	107	109
20	109	109	106	109	20	109	109	106	109
24	109	109	106	109	24	109	109	105	109

Milch am 27. VI. 05 vom Händler geholt. Nr. VII a.

		22 ° C			26 ° C					
Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken	Stunden	Keim- zahl	Stäbchen	Kokken	Strepto-	
0	107	105	106	107	0		_	_		
4	107	106	107	106	4	107	107	107	106	
8	108	108	108	108	8	108	108	107	108	
12	108	108	107	108	12	109	109	108	109	
16	109	108	108	109	16	108	108	107	107	
20	108	108	106	108	20	108	107	108	108	

Milch am 27. VI. vom Händler geholt. Nr. VII b.

		30 ° C		
Stunden	Keimzahl	Stäbchen	Kokken	Strepto- kokken
4	108	10%	108	105
8	108	105	108	106
12	108	108	108	108
16	109	109	105	104
20	108	108	105	107

Aus diesen Tabellen geht hervor, dass eine Abnahme der Kettenkokken oder eine Überwucherung derselben seitens der Stäbehen nicht stattfindet, dass sie sich im Gegenteil in jeder entnommenen Probe nicht nur erhalten, sondern auch durchschnittlich um das Zehn- bis Hundertsache vermehrt haben. Hierbei macht sich auch der Einflus der Temperatur geltend, indem die Vermehrung der Streptokokken bei höheren Temperaturen eine größere ist; wenn man aus diesen wenigen Versuchen einen Schlus darauf ziehen darf, so scheint für das Wachstum von Kettenkokken 18°C die kritische Temperatur zu sein, von welcher nach aufwärts eine stärkere Vermehrung stattfindet.

Was nun die Ursache des häufigen Auftretens der Streptokokken in der Milch betrifft, so will ich mich nicht in Vermutungen hierüber einlassen. Jedenfalls steht fest, daß in der Milch von Graz und dessen Umgebung in Milchproben, die in der Zeit vom 22. XI. 04 bis zum 27. VI. 05 entnommen wurden, in 76,6% Streptokokken durch das kulturelle Verfahren nachweisbar waren. Eine Erklärung dieses völlig unantastbaren Befundes mit Hinweis auf seine praktische Bedeutung in der Säuglingsernährung kommt mir nicht zu, ich will mich vielmehr darauf beschränken, Petruschkys Untersuchungen vollauf zu bestätigen.

Über das biologische Verhalten der von mir gefundenen Streptokokkenstämme wird Herr Dr. Müller berichten.

# Literatur.

- Holst-Axel, Über Kettenkokken und Euterentzündungen als Ursache einer akuten Gastroenteritis beim Menschen. (Ref. Baumgarten, Jahresberichte 1895, pag. 52.)
- Balley H. L., Über die Konstanz von Bakterienarten in normaler Milch. (Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., I. Bd., pag. 795.)
- 3) Escherich, Über Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. (Jahrbuch f. Kinderheilkunde, N. F., 49. Bd., pag. 162.)
- 4. Eastles, Die Pathologie der Milch. Ref. im Archiv f. Kinder heilkunde, 1903, pag. 153.
- Jäger, Über die Möglichkeit tuberkulöser Infektion des Lymphsystems durch die Milch und Milchprodukte. Hyg. Rundschau, IX. Bd., 810.
- Bergey D. H., The prevalence of streptococci in cords milk. Ref. Baumgarten Jahresberichte, 1901, pag. 31.

- 7) Reed R. C. and Ward A. R., Concerning the presence of strepto-cocci in the Gealthy and ver of a card. Ref. Zentralbl. f. Bakt., 30. Bd., pag. 83.
- 8) Lameris und van Harrevelt. Bakterienbefund in Kuhmilch nach abgeheilter Mastitis. Ref. Zentralbl. f. Bakt., 30. Bd., pag. 83.
- Conn H. W., Vergleichung des Wachstums von Bakterien in der Milch. Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, pag. 442.
- 10) Schlofsmann, Über Kindermilch. Verhandlungen der 21. Versammlung d. Gesellsch. f. Kinderheilkunde. Breslau, 1904.
  - 11) Seiffert, Über Kindermilch; ibidem.
  - 12) Rabinowitsch, ibidem.
  - 13) Brüning, ibidem.

# VI. Über die Streptokokken der Milch.

Von

#### Dr. Paul Th. Müller.

Privatdozent und Assistent am hygien. Institut.

Die Frage nach der Einheit oder Vielheit der Streptokokkenarten, welche bekanntlich auf Grund rein morphologischer und kultureller Merkmale und Kriterien nicht zu einer befriedigenden Entscheidung gebracht werden konnte, schien in ein neues, hoffnungsvolles Stadium eingetreten zu sein, als die modernen biologischen Differenzierungsmethoden, speziell die Agglutinationsreaktion und die Prüfung der hämolytischen Wirksankeit, auch auf diese Mikroorganismen Anwendung zu finden begannen.

Leider haben jedoch auch diese neuen Methoden, wenn sie auch manches wichtige und interessante Detail zutage förderten, keine sichere Antwort auf diese Frage zu geben gestattet, und Forschern, welche wie Aronson¹) und Marmorek²) nach wie vor an der Arteinheit der Streptokokken festhalten, oder wenigstens, wie Neufeld³), die Spezifität der bei gewissen Krankheiten (Scharlach) gefundenen Streptokokken für bisher nicht erwiesen halten, stehen andere gegenüber, die wie Moser und Pirquet⁴) zu der Überzeugung gelangt sind, daſs die Scarla-

<sup>1)</sup> Berliner klin. Wochenschr., 1902.

<sup>2)</sup> Berliner klin. Wochenschr., 1902.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. Hygiene, 1903, Bd. 44.

<sup>4)</sup> Zentralbl. f. Bakteriol., 1903, Bd. 34.

tinastreptokokken sich von den übrigen, bei Erysipel, Phlegmone etc. gefundenen Streptokokken spezifisch unterscheiden.

Unter diesen Umständen erschien es von vornherein nicht sehr aussichtsreich, zu untersuchen, ob sich die Streptokokken der Milch von den bei pathologischen Prozessen vorhandenen durch die genannten biologischen Reaktionen differenzieren lassen. Anderseits aber schien mir bei der großen praktischen Bedeutung der Frage, ob der Säugling wirklich, wie Petruschky meint, mit der Kuhmilch große Mengen von Eitererregern — wenn auch bei gekochter Milch im abgetöteten Zustand — aufnimmt, oder etwa nur harmlose, von den pathogenen Arten vollkommen verschiedene Streptokokken, — doch wenigstens der Versuch einer solchen Differenzierung berechtigt zu sein, und aus diesem Grunde wurden die folgenden Experimente unternommen.

Zu denselben dienten einerseits eine Auzahl von Streptokokkenstämmen, die aus pathologischen Produkten, aus Eiter verschiedenster Provenienz isoliert worden waren 1) - unter anderem auch eine Reihe von Scharlachstreptokokken, welche Herr Dozent Dr. Kraus in Wien so liebenswürdig war, mir zu überlassen - anderseits eine Anzahl von Streptokokkenstämmen, die aus verschiedenen Milchproben rein gezüchtet worden waren. Die pathogenen Streptokokken waren hierbei durch einfaches Ausstreichen des infektiösen Materiales auf Agarplatten und Übertragung der typischen Kolonien in Bouillon gewonnen worden. Zur Isolierung aus der Milch wurden dagegen zunächst die von Petruschky und Kriebel angegebenen Verdünnungen angelegt, und erst von den letzteren, wenn sie sich bei mikroskopischer Prüfung als streptokokkenhaltig erwiesen, auf Agar abgestrichen. Bemerkt sei dabei, dass nur solche Stämme zur Untersuchung herangezogen wurden, welche auf Agar die charakteristischen feinen, fast punktförmigen Kolonien aufwiesen und in Bouillonkulturen

Dieselben werden der Kürze halber im folgenden vielfach als pathogene Streptokokkene bezeichnet; damit soll jedoch nichts über deren Virulenz im Tierversuch ausgesagt sein.

deutlich ausgeprägte typische Ketten zeigten. Diplokokken oder Mikroorganismen, welche wegen ihrer längsovalen Form nicht mit Sicherheit als Streptokokken zu agnoszieren waren. wurden dagegen von unseren Experimenten ausgeschlossen.

Da im Verlaufe unserer Untersuchungen, welche sich mit einigen Unterbrechungen über mehrere Monate hinzogen, manche unserer Streptokokkenstämme eingingen, so konnten nicht alle Versuche an denselben Kulturen angestellt werden. Zur Verwendung kamen im ganzen 21 Stämme von pathogenen Streptokokken, deren Provenienz aus der folgenden Tabelle zu entnehmen ist, und 22 Stämme von Milchstreptokokken.

#### A. Streptokokken aus pathologischen Flüssigkeiten.

Nr. 1	isoliert	aus	Phlegmoneneiter	(5. VI.)
2	2	>	Panaritiumeiter	(5. VI)
3	Scharla	chst	reptokokken (Kraus)	(?)1)
4	isoliert	aus	Empyemeiter (Kraus)	(?)
5	Scharls	chst	reptokokken (Kraus)	(?)
6	Scharla	chst	reptokokken (Kraus)	(?)
7	Scharle	chst	reptokokken (Kraus)	(?)
8	isoliert	aus	Abszefseiter	(7. VI.)
9	>	>	>	(7. VI.)
10	>	>	Panaritiumeiter	(8. VI.)
11	2	э	Empyemeiter	(8. VI.)
12	>	>	Abszelseiter	(3. VI.)
13	¥	>	Abszeſseiter	(3. VI.)
14	>	>	Osteomyelitiseiter	(12. VII.)
15	>	>	Panaritiumeiter	(12. VII.)
16	>	>	Phlegmoneneiter	(12. VII.)
17	>	>	> >	(10. VII.)
18	>	3	> >	(10. VII.)
19	•	>	Buboneneiter	(2. VII.)
20	>	2	Abszefseiter (vor meh	reren Monaten)
21	>	>	Diphtheriemembran	(5. VII.)

<sup>1)</sup> Die eingeklammerten Fragezeichen bedeuten, dass das Datum der Isolierung bei den betreffenden Stämmen nicht bekannt war.

#### B. Milchstreptokokken.

Nr. 1—10 isoliert zwischen 2. VI. und 10. VI.

#### I. Milchkoagulation.

Bevor ich daran ging, die hämolytischen Eigenschaften der Milchstreptokokken und ihr Verhalten gegenüber agglutinierenden Seren zu studieren, welche durch Immunisierung mit pathogenen Streptokokken erzielt worden waren, stellte ich zunächst einige Versuche über ihre milchkoagulierenden Fähigkeiten an.

Haschimoto¹) hat erst vor einigen Jahren eine sehr sorgfältige Zusammenstellung über die bisher in der Literatur beschriebenen, milchsäurebildenden Streptokokken gegeben, unter
welchen sich neben dem für uns besonders hier in Betracht
kommenden Streptokokk. pyogenes und erysipelatis auch
die Streptokokken der Euterentzündung der Rinder
und einige andere, aus Milch und Molkereiprodukten isolierte
Streptokokkenarten befinden.

Der Versuchsmodus war der, daß mit sterilisierter Milch beschickte Reagensröhrchen mit je einer Öse 24 stündiger Bouillonkultur der betreffenden Streptokokkenstämme infiziert und bei 37°C aufbewahrt wurden. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden die Röhrchen aus dem Brutschrank genommen und der eingetretene Effekt notiert. Das Ergebnis dieser Versuche findet sich in der beistehenden Tabelle I verzeichnet, aus welcher deutlich hervorgeht, daß die Milchstreptokokken den pathogenen Arten in bezug auf ihre gerinnungserzeugende Wirkung bei weitem überlegen sind. Während nämlich von 11 aus Milch isolierten Stämmen nur 3 nach 24 Stunden keine Koagulation hervorgerufen hatten, hatte von 13 pathogenen Streptokokken nur einer zu dieser Zeit schon deutliche Gerinnung erzeugt, und die überwiegende Mehrzahl, näm-

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, 1901.

lich 9, zeigte erst nach 72 Stunden Fällung des Milchkaseins.

Tabelle I.

	Milchst	reptokokke	n	Strept	okokken a	us pathol.	Material
Nr.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 72 Std.	Nr.	nach 24 Std.	nach 48 8td.	nach 72 Std
1	+++	+++	+++	1	. 0	0	+++
. 2	+++	+++	+++	2	0	0	++-
3	0	+++	+++	8	0	+++	++-
4	0	Ö	+++	4	0	0	++-
5	+++	+++	+++	5	+++	+++	++-
6	0	Ö	+++	6	0	+++	++-
7	+++	+++	+++	7	. 0	+++	++-
7 8	+++	+++	+++	8	0	0	++-
9	1+++	+++	+++	9	U	0	++-
10	+++	+++	+++	10	0	0	++-
11	+++	+++	+++	11	0	0	++-
				12	0	0	++-
	1			13	0	0	++-

So eklatant dieser Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen von Streptokokkenstämmen nun auch zu sein scheint, so möchte ich demselben dennoch keine größere differentialdiagnostische Bedeutung beilegen und zwar aus folgendem Grunde. Da nämlich die Menge der Säure, welche von den Streptokokken innerhalb eines bestimmten Zeitraumes gebildet wird, von der Anzahl der in der Milchkultur enthaltenen Einzelindividuen abhängt und daher sehr wesentlich durch die Vermehrungsenergie des betreffenden Stammes bestimmt wird, so ist es klar, daß ceteris paribus dieienigen Streptokokkenstämme als die stärkeren Säurebildner imponieren werden, welche sich rascher in der Milch zu vermehren imstande sind, während anderseits Mikroorganismen, welche in diesem Nährmedium nur kümmerlich gedeihen, die Milch erst sehr spät oder überhaupt nicht zur Gerinnung bringen werden. So hebt denn auch v. Lingelsheim in dem Kolle-Wassermannschen Handbuch hervor, dass manche langen Streptokokkenformen aus dem Grunde die Milch nicht koagulieren, weil ihr Wachstum auf diesem Nährboden zu kümmerlich bleibe.

Da es nun aber ganz selbstverständlich ist, daß Streptokokken, welche aus Milch isoliert wurden, im allgemeinen an
dieses Nährsubstrat weit besser angepaßt sind als die aus pathologischen Produkten isolierten Formen, so kann es auch durchaus nicht wundernehmen, wenn die Milchstreptokokken sich in
bezug auf die Milchkoagulation den pathogenen Stämmen überlegen erweisen. In der Tat braucht man nur die Menge der in
die Milch eingebrachten Keime durch Vergrößerung der Aussaat zu erhöhen, um auch bei den anderen Streptokokkenstämmen
schon nach 24 Stunden Milchgerinnung zu erhalten.

Diese Differenzen in der Geschwindigkeit der Säureproduktion können daher, da sie lediglich die Folge eines verschiedenen Anpassungszustandes zu sein scheinen, nicht für eine Artverschiedenheit unserer beiden Gruppen von Streptokokken ins Feld geführt werden, wenn sie natürlich auch ebensowenig etwas für deren Identität auszusagen gestatten.

# II. Die hämolytischen Eigenschaften der Milchstreptokokken.

Nachdem Besredka<sup>1</sup>) im Jahre 1901 eine Studie über das hämolytische Gift der Streptokokken veröffentlicht hatte, haben sich eine Reihe von Forschern mit den blutlösenden Eigenschaften dieser Mikroorganismen beschäftigt, von denen wir nur Marmorek<sup>2</sup>). Aronson<sup>3</sup>) und F. Meyer<sup>4</sup>) hervorheben wollen. Von besonderem Interesse für unsere Fragestellung sind die zum Teil aus der jüngsten Zeit stammenden Arbeiten von Lubenau, Schlesinger und Kerner, und zwar deshalb, weil sich dieselben auf Streptokokken der verschiedensten Herkunft und Virulenz beziehen, welche aus diesem Grunde wohl mit den Milchstreptokokken in Parallele gesetzt werden können. Eine kurze Wieder-

<sup>1)</sup> Annal. de l'instit. Pasteur, 1901.

<sup>2)</sup> Berliner klin. Wochenschr, 1902.

<sup>3)</sup> Berliner klin. Wochenschr., 1902.

<sup>4)</sup> Berliner klin. Wochenschr., 1902.

gabe der Versuchsergebnisse der genannten Forscher dürfte daher an dieser Stelle wohl am Platze sein.

Schlesinger¹) fand unter 9 apathogenen Stämmen, von denen 2 aus der Luft des Laboratoriums, die übrigen von der normalen Rachenschleimhaut gezüchtet waren, nur einen Hämolysinbildner. Drei Stämme von Erkrankungen der Rachenhöhle (Angina und Scharlachdiphtherie) wirkten nicht blutlösend. Dagegen hämolysierten vier Stämme, die von septischen Erkrankungen herrührten (aus Blut und Eiter gezüchtet). Tierpassagen erhöhten die hämolytische Fähigkeit der betreffenden Streptokokken ganz wesentlich.

Lubenau<sup>2</sup>) untersuchte 6 verschiedene Streptokokkenstämme, von denen jedoch nur 4 imstande waren, eine mäßige blutkörperchenlösende Wirkung auszuüben, während 2 in dieser Beziehung vollkommen versagten.

Kerner<sup>3</sup>) endlich kam bei seinen Untersuchungen zu folgenden Resultaten: Von 16 untersuchten Streptokokkenstämmen verschiedener Herkunft und verschiedener Virulenz für Versuchstiere zeigten 11 deutliche hämolytische Eigenschaften. Bei 3 hochpathogenen Stämmen war die Hämolyse besonders stark. Von 7 für Tiere nicht pathogenen Stämmen hämolysierten nur 2 aus Fällen von Scharlach gewonnene Streptokokken. Ein direkt aus dem Tierkörper stammender Streptokokkus wirkte besonders stark hämolytisch. Die Überimpfung auf künstliche Nährböden, insbesondere auf Zuckerbouillon, setzte dagegen das hämolytische Vermögen derselben bedeutend herab.

In einer jüngst erschienenen Arbeit haben schließlich De Waele und Sugg die Hämolysinproduktion des »Streptokokkus variolo-vaccinalis« untersucht und gefunden, daß nur eine beschränkte Anzahl der geprüften Stämme in Bouillon hämolytische Kulturen lieferte. Im übrigen schreiben die beiden Autoren in dem Resümee ihrer Arbeit: »Mēme en expérimentant avec des streptocoques de même origine et ayant les mêmes propriétés

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Hygiene, 1903, Bd. 44.

<sup>2)</sup> Zentralbl. f. Bakteriol., 1902.

<sup>3)</sup> Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 38, H. 3, 1905.

d'agglutination, on trouve que la propriété hémolytique est très variable d'après les souches. Il n'existe un certain parallélisme entre la virulence et la propriété hémolytique que pour une même souche; la capacité de produire des hémolysines est très instable. . . . . Toute sérosité, favorise la production d'hémolysine et peut réveiller cette propriété chez des souches après plusieurs générations en bouillon ordinaire. . . . . De même que les autres streptocoques le Str. variolo vaccinal peut donc ne pas manifester dans une culture en bouillon une propriété que cepandant il possède et accuse dans certaines autres conditions.

Als Fazit aus diesen verschiedenen Untersuchungen scheint also hervorzugehen, dass zwar auch Streptokokken, welche nicht aus pathologischen Produkten isoliert wurden, und welche nicht imstande sind, unsere Versuchstiere krank zu machen, hämolytische Eigenschaften aufweisen können, dass aber diese letzteren ganz besonders bei hochvirulenten Stämmen ausgeprägt sind, und durch Tierpassagen noch erheblich gesteigert werden können. Dagegen lässt sich durch Züchtung auf besonderen Nährböden die hämolytische Kraft der Streptokokken bedeutend abschwächen; wie denn auch manche pathogene Stämme vollkommen wirkungslos auf Blutkörperchen gefunden wurden. Da nach alledem die hämolytische Wirksamkeit der Streptokokken eine biologische Eigenschaft darstellt, deren Intensität in hervorragendem Masse von der Vorgeschichte und von dem gegenwärtigen Zustande des betreffenden Stammes abhängig erscheint, und welche zweifellos auch unter Umständen ganz verloren gehen kann, so ist klar, daß schon aus diesem Grunde eine Verwertung der hämolytischen Eigenschaften unserer Mikroorganismen zur Artdifferenzierung nur mit großer Vorsicht zu handhaben sein dürfte

(Siehe die Tabellen auf S. 98 u. 99.)

Hämolyse. A. Pathogene Streptokokken.

Anmerkung	24 Stunden alte Streptokokken- Bouillonkulturen, klar zentrifugiert.	48 Stunden alte Streptokokken- Bouillonkulturen, klar zentrifugiert	Anmerkung	48 Stunden alte Strepto- kokken Bouillonkulturen, klar zentrifugiert
Nr. 13	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++		48 Str kokke
Nr. 12 Nr. 13	+++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	Nr. 16	00000
Nr. 9	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++++	Nr. 15	+++++++
Nr. 8	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++++	Nr. 14	00000
Nr. 7	00000	00000	II. Nr. 6 Nr. 9 Nr. 10 Nr. 14 Nr. 15	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
	00000	00000	Nr. 9	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
Nr.5	00000		Nr.6	00000
Nr. 4 Nr.5 Nr. 6	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	Nr. 5	00000
Nr. 3	00000	00000	Nr. 8	000++
Nr. 2	00+++	+++++	Nr. 2 Nr. 8	00000
Nr. 1	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	Nr. 1	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +
Kochsalz- lösung	0,8 ccm 0,6 · 0,4 · 0,2 ·	0,8 ccm 0,6 · 0,4 · 0,2 ·	Streptok Kochsalz- Foullion losung	0,8 ccm 0,6 , 0,4 , 0,2 ,
Streptok Kochsalz- Bouillon lösung	0,2 ccm 0,4 . 0,6 . 0,8 .	0,2 ccm 0,4 , 0,6 , 0,8 ,	Streptok Rouillon	0,2 ccm 0,8 ccm 0,4 , 0,6 , 0,8 , 0,2 , 1,0 , 0
Blut			Blut	1 ccm
Datum	10. VI. 11 ccm	11. VI. 1 ccm	Datum	29.VII

Hamolyse. B. Milehstreptokokken. In.

10. VI. 1 cem 0,2 cem 0,8 cem +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +++ +		Streptok Kochadle Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3 Nr. 4 Nr. 5 Nr. 6 Nr. 7 Nr. 8 Nr. 9 Nr. 10 Bouillon 19sung	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8	Nr. 9	Nr. 10	Anmerkung
	0,2 ccm 0,4 ,	0,8 ccm 0,6 ,	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+ + +	000	+++	000	000	000	0 0 0	24 Stunden alte Streptokokken: bouillon,
• •	0,8	0,2,0	+ +	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	++	++	00	++	0 0	00	0 0	00	klar zentrifugiert
11. VI. 1 ccm   0.2 ccm   0.8 ccm + +	0.2 ccm	0.8 ccm	+	-	+	++++	1 P.		0	0	0	0	48 Stunden alte
	0,4	0,6	+++	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	- +	T	00	+ 1	00	00	00	00	Streptokokken- bouillon,
	0,8	0,2	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++	00	++	0 9	0 0	0 0	0 0	klar zentrifugiert

tum	Blut	Streptok. Bouillon	Datum Blut Streptok. Kochsalz. Nr. 4 Nr. 1 Nr. 11 Nr. 13 Nr. 14 Nr. 16 Nr. 16 Nr. 17 Nr. 18 Nr. 19 Nr. 19	Nr. 4	Nr. 1	Nr. 11	Nr. 13	Nr. 14	Nr. 15	Nr. 16	Nr. 17	Nr. 18	Nr. 19	Anmerkung
VII.	1 ccm	0.2 ccm	29. VII. 1 cem 0.2 cem 0.8 cem +++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	0	+	+	0	0	0	0	0	0	48 Stunden alte
	•	0.4	9.0	+++	0	+	+	0	0	0	0	0	0	Streptokokken-
	•	9,0	0,4	+++	0	+++	+++	0	0	0	0	0	0	bouillon,
	•	. 80	0,2	+++	0	+++	+++	0	0	0	0	0	0	klar zentrifugiert
	•	1.0	0	++++	0	+++	++	0	0	0	0	0	0	

Die Versuchsanordnung bei unseren hämolytischen Experimenten war die folgende. Die Streptokokkenstämme wurden in weite Reagensgläser, die etwa 20 ccm Bouillon enthielten, geimpft, nach 24 bzw. 48 stündigem Verweilen im Brutschrank (bei 37°) zentrifugiert und die obenstehende spiegelklare Flüssigkeit zur Prüfung auf ihren Gehalt an Hämolysinen abgegossen. Von dieser Flüssigkeit wurden steigende Mengen zu je 1 ccm einer 5 proz. Aufschwemmung von Meerschweinchenblut hinzugesetzt und das Gemisch auf das Volumen von 2 ccm ergänzt. Nach gründlichem Durchschütteln kamen die Proben auf 6 Stunden in den Brutschrank und wurden dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Bei der mit Ia und Ib bezeichneten Serie unserer Versuche kamen die Streptokokkenstämme relativ kurze Zeit nach ihrer Isolierung zur Verwendung, bei Serie II waren dieselben meist einige Wochen lang im Laboratorium fortgezüchtet worden, ehe sie auf ihre hämolytischen Eigenschaften geprüft wurden. — Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich in wenigen Worten zusammenfassen.

Bei Serie I zeigten von 13 pathogenen Streptokokkenstämmen 7 hämolytische Fähigkeiten, von 10 Milchstreptokokken dagegen 5.

Bei Serie II hämolysierten von 10 pathogenen Streptokokken 4 deutlich, 1 nur spurenweise; dagegen von 10 Milchstreptokokken 3.

Drückt man — zur leichteren Übersicht — diese Verhältnisse prozentisch aus, so hämolysierten

bei Serie I von den pathogenen Streptokokken 53,8%

Milchstreptokokken 50,0%

bei Serie II > pathogenen Streptokokken 40,0%

Milchstreptokokken 30,0 %.

Wie hieraus klar hervorgeht, besteht also auch bezüglich der hämolytischen Eigenschaften der beiden Gruppen unserer Streptokokken kein irgend erheblicher Unterschied. Sowohl bei den pathogenen wie bei den aus Milch isolierten Stämmen finden sich stets einige Arten, welche die Blutkörperchen zur Auflösung bringen, während andere Stämme diese Fähigkeit vermissen lassen. Für unsere Frage, ob die Milchstreptokokken mit den pathogenen Arten identisch sind oder nicht, ist somit auch auf dem Wege des hämolytischen Experimentes keine befriedigende Antwort zu erhoffen.

Bemerkt sei, das übrigens auch bei Überimpfung unserer Streptokokken auf Blutagar (2 ccm desibirnietres Kaninchenblut auf 5 ccm Agar) keine wesentlich anderen Resultate erhalten wurden, wie die beistehende kleine Tabelle ergibt. Wie Kerner<sup>1</sup>), konnten auch wir die Beobachtung machen, das Stämme, deren Bouillonkulturen nichthämolysierend wirkten, auch auf Blutagarplatten wirkungslos blieben und keine Andeutung jenes breiten hellen Hos erzeugten, welcher die Kolonien der blutlösenden Stämme umgibt.

	Milch- tokokken		thogene otokokken
Nr.	Hämolyse	Nr.	Hamolyse
4	+++	1	+++
11	+++	3	0
14	0	5	0
15	. 0	9	1+++
16	0	10	1+++
17	0	15	+++
19	0	14	0
20	0	17	0
21	0	18	0
22	0	19	+++
	1	20	+++

Nur in einem Punkte unterscheiden sich diese Versuche, die ja zum beträchtlichen Teile mit anderen Streptokokkenstämmen ausgeführt wurden, von den früher mitgeteilten, indem nämlich das Verhältnis zwischen den hämolysierenden und nicht hämolysierenden Stämmen bei den beiden Gruppen von Streptokokken ein wesentlich anderes ist. Während hier nämlich nur 2 von 19 Milchstreptokokken imstande waren, die roten Blutkörperchen zur Auflösung zu bringen,

<sup>1)</sup> a. a. O.

also  $20^{\circ}/_{0}$ , hämolysierten von 11 pathogenen Streptokokken 6, also  $54,5^{\circ}/_{0}$ . Jedenfalls beweist aber auch diese Versuchsreihe wieder, daß das hämolytische Vermögen bei beiden Gruppen von Streptokokken ebensogut vorhanden sein wie fehlen kann.

### III. Die Agglutination der Milchstreptokokken durch Streptokokkensera.

Die Frage, ob es möglich sei, durch die Agglutinationsreaktion die verschiedenen Streptokokkenarten zu differenzieren, hat, wie bereits einleitend bemerkt wurde, in den letzten Jahren die Forscher vielfach beschäftigt. Die letzten Arbeiten über dieses Thema rühren von Kerner<sup>1</sup>) und Fischer<sup>2</sup>) her und bringen nicht nur eine Reihe von sorgfältigen eigenen Untersuchungen, sondern auch eine ausführliche Übersicht über die vorliegende Literatur, so daß diesbezüglich auf die Zusammenstellungen der genannten beiden Autoren verwiesen werden kann.

Hingegen müssen wir auf die wichtigen Ergebnisse ihrer Experimente etwas näher eingehen.

Fischer kommt auf Grund seiner Versuche zu folgenden, für unsere Fragen höchst belangreichen Schlußfolgerungen:

Ein monovalentes Streptokokkenserum, welches mit Streptokokken, die nicht durch Tierpassagen verändert worden sind, hergestellt wurde, agglutiniert stets den homologen Stamm; dagegen vermag es nicht, sämtliche heterologen Streptokokkenarten zu agglutinieren. Je nach dem Verwandtschaftsgrade werden die letzteren bald stärker, bald weniger stark beeinflußt. Besonders die Sera, welche mit den Streptokokken des Erysipels, Scarlatina, Puerperalfiebers und dem Streptokokken des Erysipels, Scarlatina, Puerperalfiebers und dem Streptoc. Marmorek hergestellt wurden, wirkten auf eine geringere Anzahl von Stämmen, als die Sera, die mit den übrigen Arten gewonnen wurden. Anderseits können aber bisweilen heterologe Stämme sogar stärker durch das betreffende Serum agglutiniert werden als homologe. Eine Diagnose der saprophytischen und pathogenen Streptokokken ist daher auf Grund der Agglutinationsprobe

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. Bakt., Bd. 38, 1905.

<sup>2)</sup> Zentralbl. f. Bakt., Bd. 37, 1904.

nicht möglich. Dagegen ist nach der Ansicht Fischers gerade das sehr verschiedene Verhalten der einzelnen Streptokokkensera gegenüber den heterologen Stämmen ein weiterer Beweis dafür, dass eine große Multiplizität der Streptokokkenstämme besteht

Auch Kerner gelangte im wesentlichen zu ganz analogen Resultaten und schließt sich daher in den Hauptpunkten den Anschauungen Fischers vollkommen an. Auch er konnte beobachten, dass das homologe Serum den eigenen Stamm gewöhnlich am stärksten agglutiniert; die anderen von ihm untersuchten hochvirulenten Stämme wurden auch, allerdings in schwächerem Grade, beeinflusst; von den nicht tierpathogenen Arten wurden einige agglutiniert, andere nicht; ferner wurden von zwei aus Scharlachfällen isolierten Streptokokken der eine mit allen Serumarten, der andere nur mit einem Serum agglutiniert. Eine Gesetzmässigkeit war nicht nach weisbar. Im allgemeinen wirkten aber die für Kaninchen hochpathogenen Streptokokken am stärksten hämolytisch und zeigten mit Kaninchenimmunserum die höchsten Agglutinationswerte. - Auf Grund dieses Tatbestandes wird man daher mit Hilfe der Agglutinationsreaktion kaum mehr imstande sein, festzustellen, als, ob die Milchstreptokokken den pathogenen Arten so nahe verwandt sind, dass sie in gleich hohen Verdünnungen agglutiniert werden, oder ob sie denselben ferner stehen. Ist das erstere der Fall, dann wird man sich zwar nicht mit absoluter Sicherheit für deren Identität mit den pathogenen Streptokokken aussprechen können, wird dieselben aber doch als zum mindesten höchst verdächtig bezeichnen müssen und als eine höchst unliebsame Beigabe der Säuglingsmilch betrachten.

Werden dagegen die Milchstreptokokken mit den zur Verfügung stehenden Immunseris, die mit Hilfe von pathogenen Stämmen erzeugt wurden, nicht agglutiniert, dann liegt zwar die Möglichkeit vor, dass es sich bei diesen Arten um harmlose und daher nicht weiter zu beachtende Saprophyten handelt, es kann jedoch nach den Versuchen

Fischers durchaus nicht als ausgeschlossen gelten, daß dieselben nicht etwa doch pathogene Arten darstellen, die nur mit den betreffenden Seris zufällig nicht reagieren. Mit anderen Worten: ein positiver Befund spricht mit großer Wahrscheinlichkeit für die pathogene Natur der Milchstreptokokken, ein negativer dagegen läßt die Frage in suspenso. —

Zu unseren Agglutinationsversuchen dienten ein Streptokokkenserum >Elise und ein Scharlachserum, welche wir beide der Liebenswürdigkeit des Herrn Dozenten Dr. Kraus in Wien Unsere Streptokokken wurden in Kölbchen zu je 100 ccm Bouillon eingesät und nach 24 stündigem Verweilen derselben im Brutschrank durch anhaltendes Zentrifugieren von ihrer Nährflüssigkeit befreit. Der weißliche Bodensatz wurde dann in wenig physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit Porzellanperlen tüchtig durchgeschüttelt. Darauf wurde die stark getrübte Flüssigkeit etwas mit Kochsalzlösung verdünnt und kurze Zeit zentrifugiert. So erhielt man einerseits eine mehr minder getrübte, aber homogene Bakteriensuspension und anderseits neuerdings einen Bodensatz, der, wie das erste Mal mit Porzellanperlen geschüttelt wurde, um dann wieder, mit geringen Mengen der Suspension gemischt, zentrifugiert zu werden. Nach mehrmaliger Wiederholung dieser Operationen resultierte dann in den meisten Fällen eine genügend dichte, homogene Aufschwemmung der Streptokokken, welche, sich selbst überlassen, innerhalb 24 Stunden keine Spontanagglutination aufwies. Nur einige Stämme - sie gehörten ausschließlich der »pathogenen« Gruppe an - waren auf diese Weise nicht in die Form einer gleichmässigen Emulsion zu bringen und mussten daher ausgeschaltet werden, da die spontane Häufchenbildung gerade bei der Agglutination der Streptokokken außerordentlich störend wirkt. Bei anderen Stämmen dagegen genügte schon ein einmaliges kurzes Schütteln, um eine homogene Emulsion zu erhalten. Die Reaktion wurde makroskopisch, in kleinen Reagensgläsern, angestellt, welche für 6 Stunden in den Brutschrank kamen. dann aber durch 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen blieben,

Eine Kontrolle ohne Serumzusatz wurde natürlich jedesmal mit angesetzt, um Spontanagglutination auszuschließen.

Die Resultate dieser Versuche finden sich in den folgenden Tabellen verzeichnet.

#### I. Agglutination.

#### A. Milchstreptokokken. Streptokokkenserum > Elise.

Ver- dünnung	Nr. 4	Nr. 11	Nr. 13	Nr 14	Nr. 15	Nr. 16	Nr. 17	Nr. 19	Nr. 20	Nr. 21	Nr. 22
1:10	1+++	+++	+++	0	0	4.4.4	0	+++	+++	0	+++
1:25	+++	+++	+++	0	0	0	0	+++	0	0	+++
1:50	+++	1+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1:100	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1:200	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	+++	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1:800	+++	- 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:8200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

#### B. Pathogene Streptekekken. Streptokokkenserum > Elis .

Verdünnung	Nr. 1	Nr. 3	Nr. 10	Nr. 9	Nr. 15	Nr. 18	Nr. 19	Nr. 20	Nr. 21
1:10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	+++	++4
1:25	+++	++	+++	+++	+++	+++	0	+++	+++
1 : 50	+++	0	+++	+++	+++	0	0	+++	+++
1:100	+++	0	+++	+++	+++	0	0	+++	+++
1:200	+++	0	+++	+++	+++	0	0	+++	++
1:400	1+++	0	0	0	+++	0	0	0	0
1:800	+++	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1600	. 0	0	0	0	0	0	0	Ð	0
1:3200	0	0	0	0	0	0	0	0	0

# II. Agglutination.

#### A. Milchstreptokokken. Scharlachserum.

Verdünnung	Nr. 4	Nr. 13	Nr. 14	Nr. 15	Nr. 16	Nr. 17	Nr. 19	Nr. 21	Nr. 22
1:10	+++	+++	0	0	+++	0	+++	0	+++
1:25	+++	++++	0	0	0	0	0	0	+++
1:50	0+++	+++	0	0	0	0	0	0	0
1:100	1+++	+++	0	0	0	0	0	0	0
1:200	+++	1++4	0	0	0	0	0	0	0
1:400	+++	. + -	0	0	0	0	0	0	0
1:800	1 0	0	0	0	- 0	0	0	0	0
1:1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:3200	0	0	0	0	0	0	0	0	0

B. Pathogene Streptokokken. Scharlachserum.

Verdünnung	Nr. 1	Nr. 3	Nr. 9	Nr. 10	Nr. 15	Nr. 18	Nr. 19	Nr. 20	Nr. 21
1:10		+ 1 -			180 191 100	-	0	+++	0
1:25	-	+-+		na na li	+		0	+++	U
1:50	+		0		+	0	0	++-	0
1:100			0	+	-	0	0		0
1:200		nan nin re	0	in	444	0	0	+++	0
1:400	4	0	0	+		0	0	+++	0
1:800		0	0		0	0	U	+++	0
1:1600	180.00	0	0	0	0	0	0	0	0
1:3200	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Das Ergebnis dieser Agglutinationsversuche läßt sich kurz folgendermaßen darstellen. Ihrem Verhalten zu den beiden Streptokokkenseren nach ließen sich die verschiedenen Stämme in drei verschiedene Gruppen bringen. Die erste Gruppe wurde durch jene Streptokokken gebildet, welche auch bei den stärksten in Anwendung gezogenen Serumkonzentrationen (1:10) keine Beeinflussung erkennen ließen. In die zweite Gruppe würden jene Stämme gehören, welche nur in den stärksten Konzentrationen, 1:10 bzw. 1:25 Agglutination zeigten, von den höheren Serumverdünnungen dagegen nicht angegriffen wurden. Zur dritten Gruppe endlich wären jene Streptokokkenstämme zu rechnen, welche noch von dem stark verdünnten (1:400 — 800) Serum in typischer Weise agglutiniert wurden.

Unter 11 Milchstreptokokken fanden sich nun 7, welche mit Immunserum reagierten, also  $63,6\%_0$ ; hingegen waren unter diesen 7 Stämmen nur 3, welche in unsere dritte Gruppe eingeordnet werden mußsten und also noch durch die stärksten Verdünnungen agglutiniert wurden; das sind somit  $27\%_0$ .

Von 9 pathogenen Streptokokkenstämmen wurden dagegen 8 agglutiniert, und zwar 2 nur von den stärksten Serumkonzentrationen, 6 auch von den höheren Verdünnungen.

Wir können also als Resultat unserer Experimente die Tatsache betrachten, dass zweifellos unter den Milchstreptokokken solche vorhanden sind, welche den pathogenen Arten, mit denen unsere Immunsera erzeugt wurden, außerordentlich nahe stehen. Diese nahe Beziehung wird um so auffallender, wenn wir erwägen, dass unsere 3 hochagglutinierten Stämme von Milchstreptokokken gleichzeitig die einzigen waren, welche imstande waren, Hämolysine zu produzieren, und dass daher auch noch in einer zweiten wichtigen Eigenschaft volle Identität mit den hochvirulenten pathogenen Stämmen besteht. Nimmt man hierzu die positiven Ergebnisse der Tierversuche Petruschkys, so kann wohl kaum mehr ein Zweifel daran bestehen, dass wirklich in der Milch pathogene Streptokokken vorkommen. Wie häufig dieses Vorkommen jedoch ist, diese Frage zu entscheiden, reicht unser Material einstweilen noch nicht aus und werden weitere Untersuchungen lehren müssen. Diese werden nicht nur an einer größeren Anzahl von Milchstreptokokken festzustellen haben, wie viele unter ihnen durch unsere Immunsera in hohen Verdünnungen agglutiniert werden, sondern werden auch den nicht agglutinierbaren Stämmen Beachtung zu schenken haben, die ja, wie wir bereits erwähnt haben, nicht ohne weiteres als apathogen bzw. als unschädlich betrachtet werden dürfen.

# VII. Die Reduktionsprobe, ein Mittel zur Beurteilung des Frischezustandes der Milch.

Von

Dr. Paul Th. Müller, Privatdozent und Assistent am hygien. Institut.

## I. Einleitung.

Wie Smidt in einer vor kurzem erschienenen Arbeit ausführt<sup>1</sup>), kommen für die Fähigkeit der Milch, Methylenblau zu seiner farblosen Leukoverbindung zu reduzieren, dreierlei Faktoren in Betracht:

- der Milchzucker, bzw. Substanzen, welche erst beim Kochen in Aktion treten,
- 2. Fermente,
- 3. Bakterien.

Nur der letztere dieser drei Faktoren, also die Mikroorganismen, gelangt schon in der vollkommen unveränderten, natürlichen Milch zur Wirkung; für die Reduktion durch die Fermente der Milch, wie dieselbe der von Schardinger<sup>2</sup>) gefundenen Reaktion zugrunde liegt, ist dagegen der Zusatz von Formaldehyd unerläfslich, während der Milchzucker nur bei deutlich alkalischer Reaktion (einige Tropfen Normalnatronlauge auf 20 ccm Milchzuckerlösung) Methylenblau zu entfärben vermag.

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, 1904, Nr. 23.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussmittel, 1902.

Treten daher in der Milch ohne weiteren Zusatz der erwähnten Stoffe Reduktionserscheinungen auf, so wird man dieselben im allgemeinen mit Recht auf die Tätigkeit der Mikroorganismen beziehen dürfen.

Mit den reduzierenden Wirkungen der Bakterien hat sich bereits eine ganze Reihe von Forschern beschäftigt. Es ist nicht unsere Absicht, an dieser Stelle im Detail auf die verschiedenen diesbezüglichen Arbeiten einzugehen, zumal vor nicht allzulanger Zeit einige Arbeiten von Klett1), Wolff2), Cathcarth und Hahn<sup>3</sup>) erschienen sind, welche eingehende Literaturangaben bringen. Wir wollen nur auf Grund dieser letzten Feststellungen den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse über die Reduktionswirkungen der Bakterien - soweit dies für unsere Zwecke erforderlich erscheint - in einigen kurzen Leitsätzen resumieren: Als sicherstehend kann ungefähr folgendes gelten: Im Prinzip ist allen Bakterien die Fähigkeit zuzuschreiben. gewissen Farbstoffen gegenüber reduzierende Wirkungen zu entfalten. (Klett). Es bestehen jedoch diesbezüglich zwischen den verschiedenen Bakterienarten sowohl qualitative wie quantitative Unterschiede. Qualitative Unterschiede insofern, als sich bei manchen Spezies ein elektives Verhalten gewissen Farbstoffen gegenüber geltend macht, quantitative Unterschiede aber in bezug auf die Intensität und Schnelligkeit der Reduktionsprozesse. Die Intensität der Reduktion ist im allgemeinen der Wachstumsintensität der Bakterien proportional (Müller4), Klett5); ferner erscheint dieselbe abhängig von der Zahl der in der betreffenden Suspension enthaltenen Einzelindividuen.

Ein prinzipieller Unterschied zwischen den obligat anaeroben und den obligat oder fakultativ aeroben Bakterien in ihrem Verhalten gegenüber dem Methylenblau und anderen leicht reduzierbaren Stoffen besteht nach Smith<sup>6</sup>) und Klett in keiner

<sup>1)</sup> Klett, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 33, 1901.

<sup>2)</sup> Wolff, Arbeiten aus d. pathol. Institut Tübingen, 1901.

<sup>3)</sup> Cathcarth u. Hahn, Archiv f. Hygiene, Bd. 44, 1902.

<sup>4)</sup> Müller, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 26.

<sup>5)</sup> Klett, a. a. O.

<sup>6)</sup> Smith, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 19.

Beziehung. Mit der oben erwähnten Abhängigkeit der Reduktionskraft einer Bakterienaufschwemmung von der Wachstumsenergie der Mikroorganismen hängt es wohl zusammen, daß diejenigen Nährlösungen, welche sich im allgemeinen für die Züchtung der Bakterien als die günstigsten erwiesen haben, auch das beste Medium für die Entwicklung ihrer reduzierenden Eigenschaften darstellen. Saure Reaktion schädigt, alkalische begünstigt die Reduktionskraft der Bakterien. Zusatz von Antisepticis vernichtet dieselbe oder setzt sie wenigstens erheblich herab. (Cathcart und Hahn<sup>1</sup>).

Über die theoretisch wichtige Frage, ob man sich die Reduktionswirkung der Bakterienkulturen an lösliche Stoffwechselprodukte oder an das Protoplasma der Mikroorganismen gebunden zu denken hat, konnte eine vollkommene Einigung unter den Forschern bislang nicht erzielt werden. Doch scheint nach allem die größere Wahrscheinlichkeit für die letztere Auffassung zu sprechen.

Schon in ihrer Mitteilung ȟber eine neue einfache Methode zur Beobachtung von Schädigungen lebender Zellen und Organismen (Bioskopie)» 2), welche auf den reduzierenden Eigenschaften der genanuten Lebewesen basiert, haben Neisser und Wechsberg darauf hingewiesen, dass diese Methode auch zu hygienischen Untersuchungen Anwendung finden könne und sogar gestatte, den Keimgehalt verschiedener Milchproben vergleichsweise derart zu bestimmen, dass man abgestufte Mengen der Milch mit Methylenblau versetzt, mit Paraffinum liquid. überschichtet und in den Brutschrank stellt.

Smidt hat dann unter Leitung Neissers dieses Verfahren weiter verfolgt und hat gezeigt, daß beim längeren Stehen der Milch die Reduktionskraft gegenüber dem Methylenblau stark zunimmt, und zwar im allgemeinen parallel dem Bakteriengehalt und dem Säuregrade, wenn natürlich auch im einzelnen ein strenger Parallelismus zwischen diesen Größen nicht besteht.

<sup>1)</sup> Cathcarth u. Hahn, a. a. O.

<sup>2)</sup> Münchner med. Wochenschr., 1900, Nr. 37.

Ahnliche Beobachtungen hatte übrigens auch bereits Schardinger angestellt.

Die von Smidt eingeschlagene Methodik, auf die wir noch zu sprechen kommen werden, war die folgende: Die von M. Neisser und Wechsberg angegebene Methylenblaulösung (Methylenblau 1.0, Alkohol absol, 20.0, Aqua dest, 29.0), die sich wegen ihres hohen Alkoholgehaltes steril hält, wurde im Verhältnis 1:250 mit steriler Kochsalzlösung verdünnt. Drei Tropfen dieser Verdünnung wurden in Reagensgläschen gegeben, welche abfallende Mengen der zu untersuchenden Milch enthielten: in allen Röhrchen wurde das Gesamtvolumen durch Auffüllen mit lange gekochter und wieder abgekühlter Milch auf das gleiche Niveau gebracht. Für Luftabschluß wurde durch Überschichtung mit Paraffinum liquidum gesorgt. Die Proben kamen in den Brutschrank bei 37°C und wurden in der Regel nach zwei Stunden besichtigt. Eine Kontrolle, welche das Nichtreduzieren der zur Auffüllung benutzten gekochten Milch beweist, sowie eine Probe der zu untersuchenden Milch ohne Methylenblau zum Vergleich der Farben sind notwendig.c.

Inwieweit die Prüfung der bakteriellen Reduktionskraft, quantitativ entweder in der angegebenen oder einer für die praktischen Zwecke handlicheren Weise gemessen, ein für die Beurteilung und Prüfung der Milch geeignetes Untersuchungs-Verfahren abzugeben berufen sei, läst Smidt einstweilen unentschieden. Jedenfalls habe dieselbe vor der Plattenzählung eine große Reihe von Vorzügen voraus, und es werde sich nur darum handeln, ob sich erfahrungsgemäß eine Grenze festsetzen lasse, von der ab der Grad der Zersetzung einer Milch als unzulässig erklärt werden könne.

Vorliegende Arbeit versucht nun, diese von Smidt unentschieden gelassene Frage an der Hand einer Reihe von Experimenten zu beantworten. Es erschien mir hierbei jedoch zweckmäßig, in einigen Punkten von der Methodik des genannten Forschers abzuweichen.

Wie wir gesehen haben, läuft dieselbe darauf hinaus, daß die kleinste Milchmenge bestimmt werden soll, welche eben noch imstande ist, binnen zwei Stunden eine gegebene Menge Methylenblau zu reduzieren. Dies bringt aber notwendigerweise den Übelstand mit sich, dass für jede einzelne zu unter suchende Milchprobe eine ganze Reihe von Röhrchen angesetzt werden muß, welche möglichst mannigfach abgestufte Milchmengen enthalten, was bei gleichzeitigem Einlangen einer größeren Anzahl von Proben nicht nur einen gewissen Aufwand an Mühe und Zeit bedeutet, sondern, da die Röhrchen in den Brutschrank gesetzt werden sollen, auch erheblichen Raum beansprucht. Je geringer aber nach beiden Richtungen hin die gestellten Anforderungen sein werden, desto leichter wird sich ein Prüfungsverfahren Eingang in die Praxis verschaffen können, wo es ja darauf ankommt, möglichst rasch und mit möglichst einfachen Mitteln eine Entscheidung zu treffen. Ich kam daher auf den Gedanken, nicht, wie Smidt dies getan hatte, die eben noch reduzierende Milchquantität als Index für den Frischezustand und den Bakteriengehalt der Milch zu benutzen, sondern die Reduktionsgeschwindigkeit bzw. denjenigen Zeitraum, welchen eine bestimmte Milchquantität erfordert, um eine gegebene Methylenblaumenge vollkommen zu entfärben. Wie ich dann beim Durchsehen der Literatur fand, haben auch Cathcarth und Hahn bei ihren Studien über die Reduktionswirkungen der Bakterien die Reduktionszeit als Maß für die reduzierende Kraft derselben benutzt. Es ist klar, dass man in diesem Falle für jede Milchprobe streng genommen mit einem einzigen Röhrchen ausreicht; gleichwohl habe ich bei meinen Versuchen - allerdings ohne daß sich eine besondere Nötigung hierzu herausgestellt hätte, und mehr des Vergleiches halber - auch noch drei Verdünnungen: 1/2, 1/4 und angesetzt.

Mein Verfahren gestaltete sich dementsprechend folgendermaßen: Drei Reagensröhrchen gewöhnlichen Kalibers wurden mit je 2 ccm frischen Leitungswassers beschickt, ein viertes blieb zunächst leer. Es stellte sich bei der Keimarmut des Grazer Wassers, das etwa 20 Keime im Kubikzentimeter enthält, als überflüssig heraus, dasselbe vorher zu sterilisieren; es mag jedoch andernorts zweckmäßig erscheinen, gekochtes Wasser zu benutzen. Das leere Röhrchen und eines der wasserhältigen wurde dann mit je 2 ccm der zu prüfenden Milch versetzt; nach gründlicher Mischung wurden nun aus dem letzteren 2 ccm in das nächste, und aus diesem wieder 2 ccm in das vierte Gläschen übertragen, aus welchem dann die überschüssigen 2 ccm entfernt wurden. Alle Röhrchen enthielten somit die gleiche Menge Flüssigkeit, nämlich 2 ccm und zwar von der Vollmilch abwärts bis zur Verdünnung 1:8. Da dieses Verdünnungsverfahren — dasselbe, das bei den Agglutinationsversuchen allgemein verwendet wird — keinerlei minutiöse Ablesung mit Meßpipetten erfordert, sondern nur eine Vollpipette zu 2 ccm nötig macht, so kann dasselbe ohne weiteres auch einem weniger geschulten Dienstpersonal überlassen werden, was unter Umständen sehr erwünscht sein kann.

In jedes Röhrchen kamen dann 0,2 ccm Methylenblaulösung, welche durch 100 fache Verdünnung der oben erwähnten, von Neisser und Wechsberg angegebenen alkoholischen Stammlösung hergestellt worden war und schließlich noch eine etwa 2 ccm hohe Schicht von Paraffinum liquidum. Hierauf wurden die Reagensgläschen in den auf 37° eingestellten Thermostaten gebracht und von Zeit zu Zeit beobachtet. Da, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, unter diesen Versuchsbedingungen bei alter und zersetzter Milch oft schon nach wenigen Minuten vollkommene Reduktion in der unverdünnten Probe eintritt, während bei reiner frischer Milch hierzu viele Stunden erforderlich sind, so hat unsere Modifikation des Reduktionsversuches, abgesehen von ihrer technischen Einfachheit noch den weiteren Vorteil, unter günstigen Umständen binnen kürzester Frist eine Entscheidung zu ermöglichen.

# II. Reduktionszeit verschiedener Marktmilchen.

Ehe ich nun daran ging, den Wert und die Bedeutung der Reduktionsprobe im einzelnen zu studieren und den Einflußs verschiedener Faktoren auf die Reduktionsgeschwindigkeit zu ermitteln, suchte ich mir zunächst Kenntnis davon zu verArchly f. Hyglene Bd. LVL.

schaffen, wie groß die Reduktionszeit bei verschiedenen käuflichen Milchproben zu sein pflegt.

Zu diesem Zwecke wurde untersucht:

- a) Milch, die direkt nach dem Melken, ohne weitere Kautelen entnommen und sofort verarbeitet wurde;
- b) Milch, welche von Milchbauern ca. um 5 Uhr früh entnommen, ins Institut gebracht und bis zur Untersuchung im Laufe des Vormittags kühl aufbewahrt wurde;
- c) Milch, welche vom Greifsler, Milchhändler etc. im Laufe des Vormittags geholt und sofort verarbeitet wurde;
- d) Milch, welche vom Greifsler etc. nachmittags geholt und sofort verarbeitet wurde.

Die nicht uninteressanten Ergebnisse dieser Untersuchungen finden sich in Tab. I zusammengestellt. Wie eine Betrachtung derselben lehrt, findet sich die weitaus längste Reduktionszeit. mithin die geringste Reduktionsgeschwindigkeit bei den unmittelbar nach dem Melken verarbeiteten Milchproben. Etwas kürzer, aber immer noch durchschnittlich 71/2-8 Stunden lang war der zur Entfärbung des Methylenblaus erforderliche Zeitraum bei den möglichst früh vom Milchbauer entnommenen und dann bis zur Untersuchung kühl aufbewahrten Proben. Da gegen war die Reduktionszeit bereits bei den im Laufe des Vormittags von Greifslern, kleinen Milchgeschäften etc. einge kauften Milchsorten auf 6 Stunden und darunter herabgegangen, während die am Nachmittag geholten Proben bestenfalls nur mehr eine Reduktionszeit von 3 Stunden aufwiesen. Doch kamen mitunter auch Reduktionszeiten von nur 3/4, ja von 1/2 Stunde zur Beobachtung.

(Siehe Tabelle I auf S. 115.)

Die beiden mitgeteilten Versuche wurden in den Monaten Januar bis Mitte April, also bei kaltem Wetter angestellt. Daß sich bei höherer Außentemperatur die Reduktionszeiten der käuflichen Marktmilch noch wesentlich verkürzen, zeigt die Tabelle II auf S. 115.

Tabelle I.

Art der Milch	Nummer des Versuchs	Reduk- tionszeit	Art der Milch	Num- mer des Ver- suchs	Reduk- tionszeit
A. Milch, direkt von der Kuh	IV VI VII XLV 1 2 3 3 4 XLVI 1 2 3 3 4	> 8 Std. > 8	C. Milch vom Greifsler, Milchhändler etc. im Laufe dec Vormittags geholt u. sofort verarbeitet. (Januar—März)	II III V VIII IX XVII X	1/2 Std. 1
B. Milch, ca. 5 Uhr früh vom Milch- bauern entnommen und bis zur Unter- suchung, im Laufe desVormittags, kühl aufbewahrt. (Januar-März)	XIV XV XVI XVIII XIX XX XXI XXII XXIV	61 std. 8 , 9 , 7 , 8 , 5 , 7 , 8 , 9 , 9	D. Milch wie bei C, nur des Nachmittags geholt u. verarbeitet. (Januar — Marz) und April	XXX 1 2 3 4 5 6	3 Std. 3 . 3 . 3 . 3 . 3 . 3 . 3 . 3 . 3 . 3

Tabelle II

Art der Milch	Nummer des Versuchs	Reduk- tionszelt	Art der Milch	Nummer des Versuchs	Reduk- tionszeit
Milch, im Laufe des	XXXIV	2 Std.	Milch, im Laufe des	XXXV	
Vormittags vom	XXXI	25/4 >	Nachmittags vom	1	1/2 Std.
Greifsler, Milch-	XXXVII	4 >	Greifsler etc. geholt	2	2 >
händler etc. geholt	XXXVIII	22/4 >	und sofort unter-	3	11/2 >
und sofort verar-	XXXXIX	2 ,	sucht.	4	1 >
beitet.	XL	11/2 >	(Mai und Juni)	LXVIII	
(Mai und Juni)	XLI	2 ,		1	11/2 >
	XLII	2 ,		2	28 Min.
	XLIII	1 -		3	17 >
				4	20 >

Schon aus diesen Vorversuchen geht klar hervor — was ja auch bereits S mid t in seiner erwähnten Arbeit festgestellt hatte —, daß die Reduktionskraft der Milch mit ihrem Alter zunimmt, und daß die Reduktionszeit um so kürzer wird, je längere Frist seit dem Melken verstrichen ist.

Es war nun unsere weitere Aufgabe, diese mit der Zeit eintretende Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit etwas näher zu studieren und insbesondere ihre Abhängigkeit von der Temperatur genauer kennen zu lernen, bei welcher die Milch aufbewahrt wird. Diesem Zwecke dienen die folgenden Experimente, welche in den Tabellen III—V kurz zusammengefaßt sind und wohl keiner weiteren Erläuterung bedürfen.

Dieselben lehren zunächst, daß in der Tat die Schnelligkeit, mit welcher die Reduktionskraft der Milch wächst, wesentlich durch deren Temperatur bestimmt wird, ein Resultat, das mit Rücksicht auf die bakterielle Natur dieser Reduktionsvorgänge ja von vornherein zu erwarten war. So war in Versuch XXIV die Reduktionszeit der bei 37° C aufbewahrten Milch binnen 9½ Stunden von 9 auf ½ Stunde herabgesunken, während in Versuch XXV, welcher bei 10° C angestellt wurde, hierzu 75 Stunden erforderlich waren, usf.

Die Reduktionsgeschwindigkeit einer bestimmten Milchprobe erscheint demgemäß als Funktion einerseits der Temperatur, bei welcher sie aufbewahrt wurde, anderseits der Zeit, welche seit ihrer Gewinnung verstrichen ist. Wie beträchtlich die hieraus resultierenden Differenzen sein können, geht daraus hervor, daß die Reduktionszeit schließlich auf wenige Minuten herabsinkt, ja daß die Entfärbung bei alter Milch sogar fast momentan erfolgen kann, während, wie wir bereits hervorgehoben haben, frische eben gemolkene Milch mehr als 8 Stunden braucht, um die geringe Methylenblaumenge vollständig zu reduzieren.

Beim längeren mehrtägigen Stehen nimmt übrigens die Reduktionsgeschwindigkeit sauerer, geronnener Milch allmählich wieder ab, offenbar weil in dem stark saueren Medium ein Teil der Mikroorganismen bald wieder zugrunde geht.

# III. Azidität und Reduktionszeit.

Von großem Interesse mußte nun die Frage sein, wie sich denn die Säuerung der Milch, die ja ebenfalls auf die Tätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen ist, zu ihrer reduzierenden Kraft verhält. Da auch die Azidität im allgemeinen von der einwirkenden Temperatur und von dem Alter der Milch abhängig erscheint, so war wohl von vornherein zu erwarten, daß ein gewisser Parallelismus zwischen der Reduktionsgeschwindigkeit und der Azidität einer Milchprobe bestehen dürfte. Dies ist in der Tat auch der Fall.

Tabelle III.

Nr. d. Vers.	Temp.	Nach Stunden	Aziditāt	Reduktionszeit
X	370	0	0,151	6 Stunden
		1	0,157	4 >
		2	0,157	3 ,
	ĺ.	3	0,171	21/2
		4	0,176	1 Stunde
		5	0,207	1 ,
	N	6	0,225	1 ->
	l	7	0,239	3/4 Stunden
		8	0,275	20 Minuten
XXIV	37 °	0	0,158	9 Stunden
		1h 40'	0,158	73',
		3h 20'	0,155	(; ,
		4h 30'	0,153	25',
	ĺ	5h 50'	0,158	2 ,
		7	0,191	11/2
		81: 30'	0,194	50 Minuten
		9h 20'	0,194	30 ,
	1	10h 20'	0,234	30 ,
	5	11	0,270	20 >
		13h 50'	0,446	5 >
VI	37°	U	0,153	>8 Stunden
		8	0,153	5 >
		17	0,216	10 Minuten
VII	37°	0 1	0.153	>8 Stunden
		8	0,162	5 +
		17	0,189	10 Minuten
IX	37°	0	0,149	6 Stunden
		6	0,171	1 Stunde
	l.	7	0,180	25 Minuten
		_ '	0,225	20 •

Tabelle IV.

Nr. d. Versuchs	Temp.	Nach Stunden	Aziditāt	Reduktionszeit	
Va	25 0	0	0,169	5 Stunden	
		5	0,180	2 ,	
		8	0,194	1 Stunde	
XXVI	25°	0	0,167	6 Stunden	
		1h 20'	0,169	6 ,	
		2h 20'	0,169	41/2 >	
		5h 40'	0,176	11/2 >	
		6h 40'	0,189	1 Stunde	
		8h 20'	0.209	3/4 Stunden	
		12	0,299	10 Minuten	
XXXVI	25 °	0	0,149	4 Stunden	
		1h 30'	0,158	4 .	
		6h 15'	0,158	11/2 >	
		8h 15'	0,162	3/4 >	

Tabelle V.

Nr. d. Vers.	Temp.	Nach Stunden	Aziditāt	Reduktionszeit
VЪ	10°	0	0,169	5 Stunden
		5	0,169	5 >
		8	0,169	4 >
		22h 30'	0,162	2 .
	lj	30h 45'	0,176	1 Stunde
	4	94	0,509	10 Minuten
XII	10°	0	0,151	6 Stunden
	14	24	0,180	*/4 *
		48	0,270	25 Minuten
XXV	10 0	0	0,158	9 Stunden
		7	0,155	6 >
	1	27	0,156	3 .
	1	51	0,173	1 Stunde
		75	0,203	35 Minuten
		79	0,234	25
	li.	85	0,279	20 •
XXXI	10 °	10	0,176	2 Stunden
	1	3h 45'	0,189	2 .
		5h 45'	0,189	11/2 >
		7h 45'	0,192	1 Stunde
	i	22	0,266	25 Minuten
XXXIV	10°	0	0,176	2 Stunden
	1	3	0,173	2 >
		6h 30'	0,180	50 Minuten
		24	0,261	15

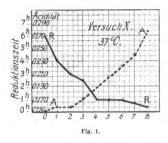
Es lehrt jedoch eine nähere Betrachtung der Tabellen sofort, dass dieser Parallelismus denn doch kein absoluter ist, sondern blofs in den groben Umrissen besteht. Betrachtet man nämlich z. B. in Versuch V b oder in XXIV jenes Zeitintervall, innerhalb welchem eine Veränderung der ursprünglichen Azidität noch nicht zu konstatieren ist, und welches daher der von Soxhlet sogenannten Inkubationsperiode entspricht, so findet man, dass gerade innerhalb dieser Periode eine sehr wesentliche Abnahme der Reduktionszeit statthat. Nicht selten war die letztere bis auf eine Stunde herabgesunken, ohne daß sich der Säuregehalt der Milch über die ursprünglichen Werte wesentlich erhoben und die für reinliche und frische Milch geltenden Grenzen überschritten hätte. 1) War die Milch dagegen in jenes Stadium eingetreten, wo die Säurebildung rasche Fortschritte macht, so trat die Reduktion schon nach weniger als einer Stunde, ja schliefslich schon nach 5-10 Minuten ein.

Es scheint dementsprechend das Ende der Inkubationsperiode bzw. der Beginn der Säuerungsperiode durch eine Reduktionszeit von etwa 1 Stunde charakterisiert zu sein, wie auch aus der folgenden Zusammenstellung zu entnehmen ist, welche angibt, bei welchem Aziditätsgrade sich die Reduktionszeit eben auf eine Stunde verkürzt hatte:

Versuch	Azidität:	Temperatur:
$\mathbf{X}$	0,176	370
XXIV	0,193	37°
IX	0,171	37°
Vb	0,176	100
XXV	0,173	100
XXVI	0,189	25°
V a	0,194	250
XII	0,180	100
XXXI	0,192	100
XXXIV	0,180	100
XXXVI	0,162	25°

Nach Lehmann (Die Methoden der praktischen Hygiene) brauchen
 com frische bei Händlern gekaufte Mich, nach Soxhlet titriert, in Würz-

Wie man sieht, sind sämtliche in dieser Tabelle enthaltene Säurezahlen unter 0,195 gelegen, also unterhalb jener Grenze, welche eben noch für frische und reinlich gemolkene Milch als zulässig erachtet werden kann. Bemerkenswert ist dabei, daß

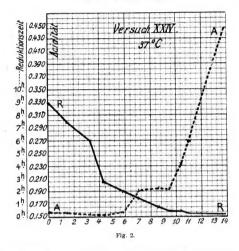


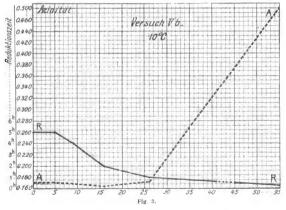
es keinen wesentlichen Unterschied zu machen scheint, bei welcher Temperatur die betreffende Milch aufbewahrt wurde. Denn stets ging der Beginn der Säuerungsperiode mit einer Reduktionszeit von höchstens einer Stunde einher, gleichgültig ob die Milch bei 10%, bei 25% oder bei 37% gestanden hatte.

Besonders anschaulich kann man sich das Verhältnis von Reduktionszeit und Azidität vergegenwärtigen, wenn man die betreffenden Werte in Kurvenform aufträgt, wie dies für einige spezielle Fälle in den Abbildungen (Fig. 1—5) geschehen ist. Dieselben lassen sehr deutlich erkennen, daß 1. während des Inkubationsstadiums, während welches die Azidität nur geringe Veränderungen aufweist, ein rapider Abfall der Reduktionszeit bis auf die Dauer einer Stunde eintritt, und daß 2. mit dem Anfang der raschen Säurebildung die Reduktionszeit unter eine Stunde herabzusinken beginnt, nachdem eine Kreuzung der beiden Kurven stattgefunden hat.

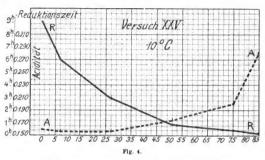
burg ca. 9,5 ccm <sup>1</sup>/<sub>4</sub> N Lauge, was **0,214** Milchsäure entsprechen würde. Wie aus unseren Versuchsprotokollen hervorgeht, zeigt die frische, in Graz kaufliche Milch einen etwas geringeren Süretiter. Da es bis zu einem gewissen Grade willkürlich ist, von welchem Momente an man die auf die Inkubationsperiode folgende Säuerungsperiode rechnen will, so sei im folgenden als Grenze eine Azidität von 0,190 Milchsäure, entsprechend etwa 8,5 ccm <sup>1</sup>/<sub>4</sub> N Lauge angenommen.

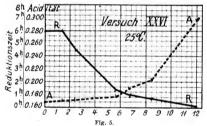
Auch Lehmann gibt an, daß Milch, die als Kinder und Krankennahrung zu dienen hat, also Milch erster Qualitäts, nicht über 8,5-9 ccm verbrauchen darf.





gestanden.





# Versuchsprotokolle.

$$\begin{array}{ll} {\rm Zeichenerklärung\colon +++= vollkommene\ Entfärbung;} \\ {\rm ++= blafsblau,\ Kuppe\ weifs;} \\ {\rm += Kuppe\ weifs,\ sonst\ unverändert\ blau.} \end{array}$$

Milch, Krankenhaus Nr. 9, 19. III. 24 Std. bei Zimmertemperatur Raduktion

Ver- Nach				
dünnung	10 Min.	20 Min.	1 Stunde	4 Stunden
1:2 1:4 1:8	0	+++	+++	+++
1:16			} 0	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,241 Milchsäure.

II.
Milch, Steiermärk. Milchgenossenschaft, 20. III. Vormittag geholt.
Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	15 Min.	30 Min.	1 Stunde	3 Stunden	
1:1	)	+++	+++	+++	
1:2		1	+++	+++	
1:4	, 0	l o	1	++	
1:8		( "	} 0	0	
1:16	J	J		0	

 $\label{eq:Azidität: 100 ccm Milch} Azidität: 100 ccm Milch = 0,185 Milchsäure. \ Die Milch wird nun in den Brutschrank gestellt, wo sie 2 Std. lang bei 37° verweilt.$ 

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	5 Min.	10 Min.	1 Stunde	2 Stunden
1:1	)	+++	1+++	+++
1:2	1	1+++	+++	+++
1:4	0	1	1+++	+++
1:8	1	} 0	1	+++
1:16	j		} 0	0

Aziditat: 100 cem Milch = 0,356 Milchsaure.

III

Milch, von einem Greisler, 20. III., geholt.

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	30 Min.	1 Stunde	3 Stunden
1:1	1	1+++	+++
1:2		1	++
1:4	} 0	1 0	1
1:8	1		} 0
1:16	J	1	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,171 Milchsäure. Die Milch wird nun durch 2 Std. auf 37°C gehalten.

Reduktion:

Ver- dünnung	30 Min.	Nach 1 Stunde	2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	0	\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	+++ +++ +++ } 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,248 Milchsäure.

IV.

Milch, Taubstummeninstitut; frisch gemolken, 21. III., 7 Uhr abends. Reduktion:

Ver-		Na	ach	
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	6 Stunden	8 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	0	0	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,162 Milchsäure. Die Milch wird über Nacht bei 10° aufbewahrt. 22. III., 9 Uhr früh.

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	8 Stunden	10 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8 1:16	0	0	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,162 Milchsäure. Die Milch wird 9 Uhr 45 Min. in den Brutschrank (37°) gesetzt. 11 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver-		N:	eh	
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	8 Stunden	10 Stunden
1:1	)	1	+++	+++
1:2			1	++
1:4	0	0	0	1
1:8				} 0
1:16	J	J	]	)

Azidität: 100 ccm Milch = 0,167 Milchsäure. 12 Uhr 30 Min. mittags.

# Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	6 Stunden	10 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8 1:16	0	0	0	+++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,167 Milchsäure.

2 Uhr 45 Min. nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	4 Stunden	Nach 6 Stunden	71/2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	8	}	+++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,171 Milchsäure. 6 Uhr abends.

Reduktion:

Ver-	N:	ich
dünnung	2 Stunden	4 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	1	+++
1:4	1 0	1
1:8	( "	} 0
1:16	J	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,180 Milchsäure. Die Milch wird 7 Uhr abends aus dem Brutschrank genommen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. 23. III., 9 Uhr früh.

Reduktion:

Ver-		N	ach	
dünnung	5 Min.	50 Min.	2 Stunden	21/2 Stunden
1:1	+++	+++	+++	+++
1:2	1	+++	+++	+++
1:4	0	10	+++	+++
1:8	)	1	0	1 +++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,225 Milchsäure.

V.

Milch, von einem Greisler, 22, III. vorm., geholt. 11 Uhr vorm. Reduktion:

Ver-			Nach		
dunnung	2 Stunden	5 Stunden	6 Stunden	7 Stunden	10 Stunden
1:1	1	+++	+++	+++	+++
1:2	} 0	1	+	+++	+++
1:4	( "	} 0	} 0	1 0	+++
1:8	,	J	1 0	10	+++

Azidität: 100 Milch = 0,169 Milchsäure. Die eine Hälfte der Milchprobe wird bei 10°, die andere bei 25°C aufbewahrt.

a) Probe bei 25°C:

4 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach		
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	6 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	1	+++	+++
1:4	} 0	1 0	+++
1:8	}	} 0	+

Azidität: 100 ccm Milch = 0,180 Milchsäure. 7 Uhr abends.

Reduktion:

Ver	N	ach
dünnung	1 Stunde	3 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	1	+++
1:4	} 0	++
1:8	J	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,194 Milchsäure.

b) Probe bei 10°C:

4 Uhr nachm.

7 Uhr abends.

Reduktion:				Reduktion	n :
Ver- dünnung	Na 2 Stunden	ach 5 Stunden	Ver- dünnung	Na 3 Stunden	ach 4 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} •	+++ ++ 0 0	1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0
	1:1 1:2 1:4 1:8	1:1 1:2 1:4	1:1	dunnung	dannung   2 Stunden   5 Stunden   dannung   3 Stunden     1:1     1:2     1:4     1:8     0     1:4     1:8     0     0     1:8     0

Aziditāt: 100 ccm Milch = Aziditāt: 100 ccm Milch = 0,169 Milchsäure.

23. III., 9 Uhr 30 Min. früh.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach 3 Stunden	5 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	1	++	+++
1:4	} 0	1 0	-+-
1:8	J	10	0

Azidität: 100 cem Milch = 0,162 Milchsaure.

5 Uhr 45 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	N	ach
dünnung	1 Stunde	4 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	0	+++
1:4	0	+++
1:8	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,176 Milchsaure. 26. III., 9 Uhr früh.
Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	30 Min.	
1:1	+++	+++	+++
1:2	1	+++	+++
1:4	} 0	1 0	+++
1:8	1	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,509 Milchsaure.

VI.

Milch, Taubstummeninstitut; 22. III., 7 Uhr abends frisch gemolken.

Kuh I.

Reduktion:

Ver- dünnung	3 Stunden	Nach 6 Stunden	8 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure. Die Milch von 11 Uhr vorm. bis 7 Uhr abends bei 37° gehalten, darauf die Nacht über bei 10°. 23. III., 9 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	3 Stunden	5 Stunden	7 Stunden	8 Stunden	
1:1 1:2 1:4	} 0	+++	++:+	+++	
1:8	J	0	0	1 7	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure. Die Milch von 9 Uhr vorm, bis 6 Uhr abends bei 37° gehalten. 6 Uhr abends.

Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	Nach 40 Min.	4 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	0	+++	+++
1:4	0	10	+++
1:8	0	0	1+++

Azidität: 100 cem Milch = 0,216 Milchsaure.

VII.

 $\mbox{Milch}$  ,  $\mbox{Taubstummeninstitut};$  22. III., 7 Uhr abends frisch gemolken. Kuh II.

200	11	k 1	i	$\cap$	T	

Ver- dünnung	3 Stunden	Nach 6 Stunden	8 Stunden
1:1	1	)	1
1:2	0	1 0	10
1:4	( "		. ( "
1.8	J	)	)

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure. Von 11 Uhr vorm. bis 7 Uhr abends wird die Milch bei 37° aufbewahrt. Dann, die Nacht über, bei 10°. 23 III., 9 Uhr früh.

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	3 Stunden	5 Stunden	7 Stunden	8 Stunden
1:1	)	++	+++	+++
1:2	8	1	+	+++
1:4	( "	} 0	} 0	+++
1:8	)	· )	1	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,162 Milchsäure. Die Milch kommt von 9 Uhr vorm, bis 6 Uhr abends in den Brutschrank (37°).

6 Uhr abends.

Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	Nach 40 Min.	4 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	1	+++	+++
1:4	0	} 0	+++
1:8	J	1	1 +++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,189 Milchsäure.

VIII.

Milch, von einem Greisler 9 Uhr 30 Min. vorm. geholt; 24. III. 9 Uhr 45 Min. Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunder	
1:1 1:2	) 0	+++	+++	+++	
1:4 1:8		0	0	0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure. Die Milch wird von 9 Uhr 45 Min. ab bei 37° gehalten. 3 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	Nach 1 Stunde	2 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	+	+++	+++
1:4	ò	+	+++
1:8	0	Ò	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,207 Milchsäure.

IX.

Milch, von einem Greisler, 24. III., 9 Uhr 30 Min. vorm., geholt-

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	4 Stunden	6 Stunden	7 Stunden
1:1	)	+++	+++
1:2	} 0	0	+++
1:4	1 "	0	0
1:8	J	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0.149 Milchsaure. Die Milch wird von 9 Uhr 45 Min, ab bei 37° gehalten. 3 Uhr 40 Min,

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	30 Min.	1 Stunde	3 Stunden
1:1	++	+++	+++
1:2	1	1	+++
1:4	} 0	} 0	} 0
1:8	J	)	1

Azidität: 100 ccm Milch = 0,171 Milchsäure. Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

4 Uhr 45 Min.

Ver-	Nach		
dünnung	25 Min.	2 Stunden	
1:1	+++	1+++	
1:2	1	+++	
1:4	} 0	1 0	
1:8	J	1	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,180 Milchsäure. Über Nacht wird 0,225 Milchsäure. die Milch bei 10° aufbewahrt.

25 III, 10 Uhr vorm Reduktion:

Ver-	N	ach
dünnung	20 Min.	1 Stunde
1:1	+++	+++
1:2	1	+++
1:4	} 0	1
1:8	J	} "

Azidität: 100 ccm Milch = 225 Milchsäure.

#### X.

27. III., 9 Uhr vorm. Milch von einem Greisler geholt. Dieselbe wird im Brutschrank bei 37° gehalten. 9 Uhr 15 Min. vorm.

Rednktion:

Ver-			Nach		
dünnung	3 Stunden	5 Stunden	6 Stunden	7 Stunden	8 Stunden
1:1	1	++	+++	+++	+++
1:2	0	1	+	++	+++
1:4		} 0	} 0	1 0	} 0
1:8	)	]	1 0	, ,	1 0

Aziditāt: 100 ccm Milch = 0,151 Milchsäure. 10 Uhr 15 Min. vorm. Reduktion:

Ver- dünnung	3 Stunden	4 Stunden	Nach 5 Stunden	6 Stunden	7 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} +++	+++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,157 Milchsäure. 11 Uhr 15 Min. vorm. Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	11/2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden	
1:1	+	+++	+++	+++	
1:2	1	)	+++	-++	
1:4	} 0	} 0	1 0	+	
1:8	J	J	1	0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,157 Milchsäure.

# 12 Uhr 15 Min. mittags.

Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	2 Stunden	Nach 3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden
1:1	+	++	+++	+++	+++
1:2	1		+++	+++	+++
1:4	} 0	} 0	1 0	1 .	++
1:8	J	]	} 0	} 0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,171 Milchsäure.

# 1 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dännung	1 Stunde	½ Stunden	3 Stunden	4 Stunden	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	1	+++	+++	+++	
1:4	} 0	1 0	1 0	++	
1:8	J	} 0	} 0	0	

Aziditat: 100 ccm Milch = 0,176 Milchsaure.

# 2 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-				
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden	2 Stunden	3 Stunder
1:1	+++	+++	+++	+++
1:2	1	+	+++	+++
1:4	} 0	110	} 0	++
1:8	)	0	10	0

Azidität: 100 cem Milch = 0,207 Milchsäure.

# 3 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden	2 Stunden	3 Stunden	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	)	++	+++	+++	
1:4	} 0	10	1 0	+ +	
1:8	J	0	} 0	0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,225 Milchsaure

4 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	3/4 Stunden	Nach 1 Stunde	11/2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	+++ } o	+++ +++ } o	+++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,239 Milchsaure. 5 Uhr 15 Min. nachm.
Reduktion:

Ver- dünnung	20 Min.	Nach 30 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++	+++
1:2	1	1	+++
1:4	} 0	} 0	1 0
1:8	1		0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,275 Milchsäure.

#### XI.

Dieselbe Milch wie in Versuch X, nur nach Zusatz von 50 ccm 1 proz. Kotaufschwemmung auf 500 ccm Milch. Das entspricht einem Kotgehalt von 1 g pro 1. — Aufbewahrung der Milch bei 37 ° C. 9 Uhr 15 Min. früh.

Reduktion:

Ver-		Na	ich	
dünnung	5 Stunden	6 Stunden	7 Stunden	8 Stunden
1:1	++	+++	+++	1+++
1:2	1	1	++	+++
1:4	} 0	} 0	} 0	+++
1:8	J	J	1 0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,151 Milchsäure.

10 Uhr 15 Min. vorm.

Reduktion:

Ver-		Na	ich	
dünnung	4 Stunden	5 Stunden	6 Stunden	7 Stunden
1:1	+++	+++	+++	+++
1:2	1	+++	+++	+++
1:4	} 0	+	++	+++
1:8	1	0	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,158 Milchsäure.

#### 11 Uhr 15 Min. vorm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden	
1:1 1:2 1:4 1:8	} o	+++ + } o	+++	+++	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,158 Milchsaure.

12 Uhr 15 Min. mittags.

Reduktion:

Ver-				
dünnung	1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} o	} +++	+++++++++	+++ +++ ++ 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,167 Milchsäure.

1 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	1	+++	+++	+++	
1:4	} 0	+	+	++	
1:8		0	0	0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,176 Milchsäure.

2 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden	2 Stunden	3 Stunden
1:1	+++	+++	+++	+++
1:2	1	++	+++	+++
1:4	} 0	} 0	} 0	++
1:8	}	1 0	10	0

Aziditat: 100 ccm Milch = 0,194 Milchsäure.

3 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden	2 Stunden	3 Stunden	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	1	++	+++	+++	
1:4	} 0	} 0	} 0	++	
1:8	J	1 0	, ,	0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,216 Milchsäure.

4 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde	11/2 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	)	+++	+++
1:4	} 0	} 0	++
1:8	)	, ,	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,261 Milchsäure.

5 Uhr 15 Min. nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	20 Min.	Nach 30 Min.	40 Min.	
1:1 1:2 1:4 1:8	+++	} 0	++++	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,297 Milchsäure.

XII.

Die gleiche Milch wie in Versuch X (27. III.). Bei 10 ° gehalten.

28. III., 9 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	1/2 Stunde	3/4 Stunden	11/4 Stunden
1:1	++	+++	+++
1:2	1	1	1+++
1:4	} 0	} 0	1
1:8			} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,180 Milchsäure.

29.	Ш	9	Uhr	vorm.	Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	25 Min.	35 Min.	40 Min.	50 Min.	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	1	1	++	+++	
1:4	} 0	} 0	1 0	1 0	
1:8	)	]	} 0	} 0	

Aziditat: 100 ccm Milch = 0,270 Milchsaure.

#### XIII.

Die gleiche mit Kuhkot versetzte Milch wie in Versuch XI. Bei  $10^{\circ}$  gehalten (27. III.). 28. III., 9 Uhr vorm.

#### Reduktion:

Ver-	Nach				
dünnung	1/2 Stunde	3/4 Stunden	11/4 Stunden	2 Stunden	
1:1	+++	+++	+++	+++	
1:2	1	1	1+++	+++	
1:4	} 0	} 0	1	++	
1:8	J	J	} 0	0	

Azidität: 100 cem Milch = 0,171 Milchsäure. 29. III., 9 Uhr vorm.
Reduktion:

Ver-		N	ach	
dünnung	25 Min.	35 Min.	40 Min.	50 Min.
1:1	+++	+++	+++	+++
1:2	)	++	++	+++
1:4	} 0	} o	} 0	} 0
1:8		( 0	10	1 0

Azidität: 100 cem Milch == 0,279 Milchsäure.

#### XXIV.

Milch vom Milchbauern, 7 Uhr früh im Institut eingelangt. 8 Uhr früh in den Brutschrank (37°) eingesetzt. 8 Uhr früh.

Reduktion:

Ver- dünnung	8 Stunden	Nach 9 Stunden	10 Stunden
1.1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,158 Milcheaure.

9 Uhr 40 Min. früh.

Reduktion:

Ver-		Nach	
dünnung	6 Stunden	73/4 Stunden	8 Stunden
1:1	)	+++	+++
1:2	} 0	1	+++
1:4	1	} 0	1 0
1:8	J		} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,158 Milchsäure. 11 Uhr 20 Min. vorm.

#### Reduktion:

Ver- dünnung	5 Stunden	Nach 6 Stunden	61/, Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,155 Milchsäure. 12 Uhr 30 Min. mittags.

# Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach   28/4 Stunden	4 Stunden
1:1 1:2 1:4	} o	+++	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure. 1 Uhr 50 Min. mittage Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach 2 Stunden	31/2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0	++++

Azidität: 100 ccm Milch = 0.158 Milchsäure. 3 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden	21/, Stunden
1:1	)	+++	+++
1:4	} °	0	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,191 Milchsäure.

# 4 Uhr 30 Min. nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	1/3 Stunde	Nach 50 Min.	2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} •	+++ } o	\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \

Aziditat: 100 ccm Milch = 0,194 Milchsaure.

5 Uhr 20 Min. nachm.

Reduktion

Ver- dünnung	20 Min.	Nach 30 Min.	11/, Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} o	} +++	++++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,194 Milchsaure.

6 Uhr 20 Min. abends.

Reduktion:

Ver- dünnung	15 Min.	Nach 30 Min.	1 Stunde
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} +++	++++ ++++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,284 Milchsäure.

7 Uhr abends.

Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	Nach 20 Min.	1 Stunde
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} o	+++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,270 Milchsäure.

9 Uhr 50 Min. abends. Reduktion:

Ver-	Nach
dünnung	5 Min.
1:1	+++
1:2	+++
1:4	1 .
1:8	} 0

Aziditāt: 100 ccm Milch = 0,446 Milchsaure.

XXV.

Dieselbe Milch wie in Versuch XXIV, nur bei 10° aufbewahrt.

3 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung 5 8	Stunden	Nach 6 Stunden	7 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	0	+++	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,155 Milchsäure.

8. IV., 11 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	+++	+++	+++ +++ ++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,156 Milchsäure.

9. IV , 11 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver- dünnung	1/2 Stunde	Nach 1 Stunde	2 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	+++	++++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,173 Milchsäure.

10. IV., 11 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver- dünnung	20 Min.	Nach 35 Min.	11/4 Stunden
1:1	+	+++	+++
1:2	1	1	+++
1:4	} 0	} 0	1
1:8	)	ļ J	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,203 Milchsäure.

3 Uhr nachm.

MCGGKCION.			
Ver- Nach			
dünnung	25 Min.	1 Stunde	
1:1	+++	+++	
1:2	1	+++	
1:4	} 0		

Radultion

- 1	9 Uhr	abends.
-----	-------	---------

.		ach
ng	10 Min.	20 Min.
1	+	+++

Ver-	Nach	
innung	10 Min.	20 Min.
1:1	+	+++
1:4	} 0	} 0
1:8	1	,

0,234 Milchsäure.

Milch, vom Greisler 8 Uhr früh geholt. Von 9 Uhr 40 Min. ab bei 25° C gehalten.

9 Uhr 40 Min. früh.

Reduktion:

Ver- dünnung	5 Stunden	Nach 6 Stunden	7 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} 0	++++

Azidität: 100 ccm Milch = 0,167 Milchsäure. 11 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver- dünnung	5 Stunden	Nach 6 Stunden	7 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	}+++	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,169 Milchsäure. 12 Uhr mittags.

Reduktion:

Ver- dünnung	4 Stunden	Nach   41/2 Stunden	6 Stunden
1:1	++	+++	+++
1:2	1	]	+++
1:4	0	0	1 .
1:8	J	1	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,169 Milchsäure.

3 Uhr 20 Min. nachm. Reduktion:

Ver- dünnung	11/2 Stunden	Nach   2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden	3 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	)	++	+++
1:4	} 0	1	+
1:8	1	0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,176 Milchsäure.

4 Uhr 20 Min. nachm. Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach 2 Stunden	21/, Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2	)	++	1+++
1:4	} 0	110	1 0
1:8	J	0	} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,189 Milchsäure.

6 Uhr abends.
Reduktion:

9 Uhr 30 Min. Reduktion:

Stunden
+++
+++
1
} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,209 Milchsäure.

Ver-	Nach
dünnung	10 Min.
1:1	+++
1:2	1
1:4	} 0
1:8	
	100 151.1

Azidität: 100 ccm Milch = Milchsäure.

Reduktion:

ohne Zusatz			mit 1,5	g Soda			
Ver- dünnung	10 Min.	Nach 15 Min.	35 Min.	Ver- dünnung	10 Min.	Nach 15 Min.	35 Min.
1:1 1:2 1:4 1:8	+++ + } o	++++	++++	1:1 1:2 1:4 1:8	+++ } o	} 0	++++

mit 3 g Soda

Vér- dünnung	10 Min.	Nach 15 Min.	35 Min.
1:1	++	++	+++
1:2	0	} 0	} o

XXX.

Milchproben, 28. IV. nachm. 4 Uhr von sechs verschiedenen Greislern geholt.

1. 5 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach 8 Stunden	4 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	} +++	+++ ++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,169 Milchsäure.

2.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach   3 Stunden	4 Stunden
1:1	1	+++	+++
1:2 1:4	} 0	} 0	+++
1:8	J	1	} 0

Azidität: 100 ccm Milch == 0,155 Milchsäure.

3.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach 3 Stunden	4 Stunden	
1:1 1:2 1:4	}	1 +++	+++	
1:8	J		} 0	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,145 Milchsäure.

.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach 3 Stunden	4 Stunden
1:1 1:2 1:4	} 0	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,167 Milchsaure.

5.

Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	Nach 3 Stunden	4 Stunden
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	+++ + } o	+++ +++ } o

Azidität: 100 ccm Milch = 0,144 Milchsäure.

6

Reduktion:

Ver- dünnung	3/4 Stunden	Nach 2 Stunden	4 Stunden
1:1	+++	+++	+++
1:2		+++	+++
1:4	} 0	1 0	+++
1:8		} 0	+

Azidität: 100 cem Milch = 0,194 Milchsäure.

XXXI.

Milch, am 1. V. 11 Uhr vorm. vom Greisler geholt. Bei 10° aufbewahrt. (Aufsentemperatur hoch.)

11 Uhr 15 Min. vorm.

Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach   2 Stunden	2º/s Stunden
1:1	)	+++	+++
1:2	} 0	1	++
1:4	( "	} 0	1
1:8	J		} 0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,176 Milchsaure.

3 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	11/2 Stunden	Nach 2 Stunden	4 Stunden
1:1	++	+++	+++
1:2		+	+++
1:4	0	1	++
1:8		} 0	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,189 Milchsaure.

5 Uhr nachm.

Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach 11/2 Stunden	3 Stunden
1:1	++	+++	+++
1:2			+++
1:4	0	0	+
1:8	J		0

Aziditat: 100 ccm Milch = 0.189 Milchsaure. 7 Uhr nachm. Reduktion:

Ver-	Nach		
dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde	2 Stunden
1:1	++	+++	1+++
1:2	1	1	1 +++
1:4	0	0	+
1:8		1	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,192 Milchsäure. 2. V., 9 Uhr vorm. Reduktion:

Ver- dünnung	10 Min.	Nach 25 Min.	1 Stunde
1:1	++	+++	+++
1:2	)	1	++
1:4	0	0	1 0
1:8	,		0

Azidität: 100 ccm Milch = 0,266 Milchsäure.

# XXXIV.

Milch, 2. V. 9 Uhr vorm, vom Greisler geholt, (Hohe Außentemperatur.) a) Bei 37° zur Bestimmung der Inkubationsdauer, von 9 Uhr 30 Min. ab.

Reduktion:

Ver-	Na	ch
dünnung	2 Stunden	4 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	)	+++
1:4	0 .	++
1:8	1	0

Azidität: 100 ccm Milch = 0.176 Milchsäure.

10 Uhr 30 Min.: Azidität: 100 ccm Milch = 0,180 Milchsaure,

11 > = 0,180 12 , · == 0,218

b) Bei 10° gehalten.

12 Uhr 30 Min. mittage.

-				
	D	- 4	1	

Ver-	Nach			
dünnung	2 Stunden	3 Stunder		
1:1	+++	+++		
1:2	)	+++		
1:4	0	1		
1:8	J	} 0		

Aziditat: 100 ccm Milch = 0,173 Milchsäure.

4 Uhr nachm.

R	е	d	u	k	t	i	0	n

Ver-	Nach		
läunung	50 Min.	2 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	1	+++	
1:4	} 0	} 0	
1:8	J	1 10	

Azidität: 100 ccm Milch = 0.180 Milchsäure.

3. V. 9 Uhr vorm.

Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	15 Min.	30 Min.		
1:1	+++	1+++		
1:2	1	+++		
1:4	} 0	1		
1:8	- 1	1 0		

Azidität: 100 ccm Milch = 0,261 Milcheäure.

# XXXV.

Milch, 2. V. nachm. 4 Uhr von vier verschiedenen Greislern geholt. Außentemperatur sehr hoch.

Ver-	Na	ch
dünnung	1, Stunde	11/2 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	)	+++
1:4	0	1 .
1:8	1	1 0

0.248 Milchsäure.

3. Reduktion:

1. 5 Uhr. Rednktion:

Ver-	Nach		
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden	
1:1	++		
1:2	1	1)	
1:4	0	0	
1:8	J		

Azidität: 100 ccm Milch 0.176 Milchsäure.

R	۵	a	11	b	+ 1	0	n	٠

Ver- lünnung	1 Stunde	Nach 2 Std.	3 Std.
1:1 1:2 1:4 1:8	} 0	+++ } o	++++++++++

0.144 Milchsäure.

#### Reduktion:

Ver-	Nach			
dünnung	1 Stunde	11/2 Stunden		
1:1	+++	1+++		
1:2	1	++		
1:4	} 0	11		
1:8	1	} 0		

#### XXXVI.

- 2. V., Milch vom Milchbauern, 7 Uhr ins Institut gebracht. Außentemperatur hoch.
- a) Bei 37° zur Bestimmung der Inkubationsdauer, von 9 Uhr 15 Min. ab.

9 Uhr 15 Min.: 100 ccm Milch = 0,149 Milchsäure.

10	•	15	>	,	,	= 0,162	•
11	,	15	•	•	•	= 0.162	•
12	>	15	>	,	,	= 0,162	>
1	,	15	,	,		= 0.180	,
- 13						0.053	

- b) Bei 25° aufbewahrt; von 9 Uhr 15 Min. ab.

9 Uhr 15 Min. vorm. 10 Uhr 45 Min. vorm. Reduktion: Raduktion

	Hearing to the			reo a a k cro					
Ver-	Nach		er- Nach Ver-		Ver-	Nach			
dünnung	4 Stunden	51/2 Stunden	dünnung	4 Stunden	6 Stunden				
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++				
1:2	1	+++	1:2	1	+++				
1:4	} 0	++	1:4	0	++				
1:8	. 1	0	1:8	<b> </b>	0				

Azidität: 100 ccm Milch = 0,178 Milchsäure.

3 Uhr 30 Min. nachm. Reduktion:

5	Uhr	20	Min	n.	n	ac	hı	n.
		Rе	d u	k	t i	0	n	:

Ver-	Nach			
dünnung	11/2 Stunden	21/2 Stunden		
1:1	+++	+++		
1:2	1	+++		
1:4	} 0	1 .		
1:8		1 0		

Azidität: 100 ccm Milch 0,158 Milchsäure.

Ver-	Nach			
dünnung	45 Min.	1 Stunde		
1:1	++(+)	+++		
1:2	)	1		
1:4	} 0	0		
1:8	1			

Azidität: 100 cem Milch = 0.162 Milchsäure.

#### XLV.

9, V. Milchproben 1, 2 und 3 direkt in das Glasgefäß gemolken: 4. aus dem Milcheimer entnommene Mischmilch.

1. Reduktion:

Ver-	Na	ch
dunning	6 Stunden	12 Stunder
1:1 1:2 1:4	} 0	} 0

2.		
Ver-	Na	ch
dünnung	6 Stunden	12 Stunden
1:1	)	+++
1:2	0	
1:4	( "	} 0
1:8	J	1
		10

3.			4.		
Ver-	Na	ich	Ver-	Na	ch
dünnung	6 Stunden	12 Stunden	dünnung	10 Stunden	12 Stunden
1:1	)	+++	1:1	+++	+++
1:2	} 0	++	1:2	1	+++
1:4	1	} 0	1:4	} 0	} 0
1:8	,	1 1	1:8		1 0

#### XLVI.

V. Wie in Versuch XLV.
 Reduktion:

Ver-		Na	
dünnung	12	Stunden	14 Stunden
1:1	1		+++
1:2	Ţ	0 -	
1:4	1	-	} 0

Ver- dünnung	Nach	
	12 Stunden	14 Stunden
1:1	)	+++
1:2	} 0	1
1:4	( "	0
1 . 8		

Ver- dünnung	Nach		
	12 Stunden	14 Stunden	
1:1	)	1	
1:2	10	\ 0	
1:4			
1:8	,	J	

Ver- dünnung	Nach	
	12 Stunden	14 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	1	++
1:4	} 0	1 .
1:8		} 0

#### XLVIII.

 VI. 4 Uhr nachm Milch von vier Greislern geholt. Reduktionsprobe sofort angestellt. Aufsentemperatur sehr hoch.

# Reduktion:

Nr. 1. entfärbt nach 11/2 Stunden,

2. • 28 Min.,

3. 17 . 20 .

# IV. Reduktionszeit bei Gemischen von saurer und frischer Milch.

Zweifellos wird es nicht selten vorkommen, daß ein Milchverkäufer die frische Milch, die er des Morgens vom Milchbauern erhält, zu einem übrig gebliebenen und sauer gewordenen Reste hinzufügt und das Gemisch auf den Markt bringt. Häufig wird auch die Mittag- oder Abendmilch über Nacht aufrahmen gelassen, der Rahm dann abgeschöpft und der Rest mit der frischen Morgenmilch vermischt. Ebenso wird der Milchbauer selbst, zumal wenn, wie das häufig der Fall ist, die Reinigung der Milchkannen nur recht mangelhaft erfolgt, oft genug derartige mit saurer Milch infizierte Proben abliefern, und es erhebt sich daher die Frage, welchen Einfluss eine derartige Vermischung von frischer Milch mit saurer auf deren Reduktionszeit ausübt. Bekanntlich hat Soxhlet1) bereits vor langer Zeit auf den ungünstigen Einfluss aufmerksam gemacht, welchen derartige, selbst geringe Reste zersetzter Milch, die in den mangelhaft gereinigten Gefäßen zurückbleiben, auf die Haltbarkeit der frischen Milch ausüben, und hat z. B. gezeigt, dass ein Zusatz von 0,1% einer in voller Säuerung begriffenen Milch das Inkubationsstadium um 15%, ein Zusatz von 1,5% um 80% verkürzte, und dass ein Zusatz von 3,3% saurer Milch sogar hinreichte, um das Inkubationsstadium ganz aufzuheben. Ahnliche Ergebnisse waren daher wohl auch von der Anstellung der Reduktionsprobe zu erwarten.

Die folgenden Experimente suchen eine Antwort auf diese Frage zu geben. (XXXVII, XXXVIII.)

Es wurden zu einer mehr oder weniger frischen, jedenfalls noch nicht im Säuerungsstadium befindlichen Milch verschieden abgestufte Mengen saurer, geronnener Milch hinzugefügt, deren Azidität bekannt war. Die Zusatzmengen schwankten zwischen 1 und 10% der frischen Milch. Darauf wurde mit allen diesen Proben der Reduktionsversuch in der gewohnten Weise angestellt. Der Effekt der Vermischung von relativ keimarmer Milch mit der Keimreichen sauren war nun in der Tat, wie aus den Protokollen hervorgeht, ein recht bedeutender. Schon der Zusatz von 2% saurer Milch äufserte sich z. B. in Vers. XXXVII durch ein Absinken der Reduktionszeit von 4 auf 1% Stunden; 4% verkürzte dieselbe auf eine Stunde, 8% sogar auf 25 Minuten. Ähnlich waren die Ergebnisse bei den übrigen Versuchen, so dafs man also die Verschlechterung, welche durch

<sup>1)</sup> Bericht d. Wandervers, bayer, Landwirte, Okt. 1884, zitiert nach Stohmann, Milch u. Molkereiprodukte

den Zusatz von geringen Mengen saurer Milch hervorgebracht wird, sehr deutlich in der Zunahme der Reduktionsgeschwindigkeit zum Ausdruck kommen sieht

Aber auch Milch, welche noch nicht soweit in dem Säuerungsstadium fortgeschritten ist, daß es zu einer Abscheidung des Kaseins gekommen wäre, vermag die Reduktionszeit frischer Milch ganz wesentlich abzukürzen, wie aus den Versuchen L und Liil hervorgeht.

#### XXXVII.

Milch, 3. V., vom Greisler geholt, 9 Uhr 15 Min.

Reduktion:

Ver- dünnu <b>n</b> g	3 Stunden	Nach 4 Stunden	6 Stunden
1:1	0	+++	+++
1:2	0	0	+++
1:4	0	0	++
1:8	0	0	0

Azidität: 100 ccm = 0,158 Milchsäure.

Zu $4/_2$ l werden nun sukzessive zugesetzt: 10, 20, 30, 40, 50 ccm saure Milch, deren Azidität für 100 ccm = 0,763 Milchsäure.

a) 10 ccm saure Milch:

Reduktion:

Ver-	Nach		
dünnung	1º/4 Stunden	3 Stunden	
1:1	+++	+++	Azidität, berechnet aus der
1:2	0	+++	Azidität der frischen und der
1:4	0	0	sauren Milch: 0,163 Milchsaure.
1:8	0	0	sauren sinch: 0,100 Amensaure.

b) 20 ccm saure Milch.

Reduktion:

Ver-	Nach		
dünnung	1 Stunde	2 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	0	+++	Azidität, berechnet:
1:4	0	0	0,171 Milchsäure.
1:8	0	0	,

c) 30 ccm saure Milch.

Reduktion:

Ver-	N	lach	
dünnung	40 Min.	11/2 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	0	0	Azidität, berechnet:
1:4	U	0	0,185 Milchsäure.
1:8	0	0	

d) 40 ccm saure Milch.

Reduktion:

Ver- dünnung	Nach 25 Min.	al	
1:1	+++	7	
1:2	Ü	i	Azidität, berechnet: 0,199 Milchsaur
1:4	0	1	The state of the s
1:8	0		

e) 50 ccm saure Milch.

Reduktion:

Ver-		ach
dünnung	15 Min.	1 Stunde
1:1	+++	+++
1:2	0	+++
1:4	0	0
1:8	0	0

Azidität letzteren Gemisches: 100 ccm = 0.209 Milchsäure (berechnet: 0.210).

### XXXVIII.

4. V., früh, Milch, vom Greisler geholt. Zu derselben hinzugefügt 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 auf 100 ccm einer sauren Milch, deren Azidität für 100 ccm = 0.720 Milchsäure.

a) ohne Zusatz.

Reduktion:

Ver- dünnung	1 Stunde	Nach   23/4 Stunden	3 Stunden
1:1	0	+++	+++
1:2	0	0	+
1:4	0	0	Ó
1:8	0	0	0

Azidität: 100 ccm = 0,158 Milchsäure.

# b) 1 ccm saure Milch.

### Reduktion:

Ver- dünnung	2 Stunden	3 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2 1:4			Azidität, berechnet:
1:4	10	0	0,165 Milchsäure.

# c) 2 ccm saure Milch.

### Reduktion:

Ver-	Na	ch	
dünnung	11/ <sub>2</sub> Stunden	21/2 Stunden	
1:1 1:2 1:4 1:8	+++ 0 0 0 0	+++	Azidität, berechnet: 0,172 Milchsaure

### d) 3 ccm saure Milch.

## Reduktion:

Ver- dünnung	Nac 11/2 Stunden		
1:1 1:2 1:4 1:8	+++	+++ +++ 0 0	Azidität, berechnet: 0,180 Milchsäure

# e) 4 ccm saure Milch.

#### Reduktion:

Ver- dünnung	Nac 1½ Stunden		
1:1 1:2 1:4 1:8	+++ 0 0 0	+++	Aziditāt, berechnet, 0,187 Milchsaure

# f) 5 ccm saure Milch.

#### Reduktion:

Ver- dünnung	Nach		
		11/2 Stunden	
1:1 1:2 1:4	+++	+++	Azidität, berechnet:
1:8	0	0	0,194 Milchsäure

### g) 6 ccm saure Milch.

Reduktion:

Ver- dünnung		ach 11/2 Stunden	
1:1 1:2	+++	+++	Azidität, berechnet:
1:4 1:8	0	0	0,201 Milchsäure

Azidität: 100 ccm == 0,208 Milchsäure.

I.,

14. V. a) Milch vom Greisler 13. V. mittags geholt, 24 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. b) Milch 14. V. mittags gemolken und bis zum Versuch auf  $10^{\circ}$  gekühlt.

Reduktion:

	Nach 1 Std.   2 Std.   3 Std.   12 Std.
1. Milch a allein	+++ +++ +++ +++
2. , b ,	0 0 0 0
3. 1 Milch a + 9 Milch b	0 0 ++++++
1.2 , , +8 , ,	0   + + +   + + +   + + +
$5.3 \rightarrow +7 \rightarrow$	+++ +++ +++ +++
$3.4 \rightarrow +6 \rightarrow$	+++ +++ +++ +++
7.5 > > + 5 > >	+++  +++  +++  +++

Milch a) war zur Zeit des Versuchs noch nicht geronnen und zeigte eine Azidität von 0,171 Milchsäure pro 100 ccm.

LII.

15. IV., Milch a) 12 Uhr mittags frisch gemolken. Milch b), sauer, geronnen.

Reduktion:

									1		N	ach		
									40 M	1 Std.	11/4 St.	11/2 St	3 Std.	9 Std.
1.	100	cem	Milch	а	+	1 c	cm	ь	0	0	0	0	+++	++
2.	`,	,	,	,	+	2	,	,	0	0	0	0	+++	+++
3.	,	,	>	,	+	3	,	,	0	0	0	+++	+++	+++
4.	>	•	,	,	+	4	,	>	0	0	0	+++	+++	+++
5.	•	,	,	,	+	5	,	,	0	0	+++	+++	+++	+++
6.	,	,	,	,	+	6	,	,	0	+++	+++	+++	+++	+++
7.	,	,	,	,	+	7	,	•	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8.	,	,	,	,	+	8	,	,	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9.	,	•	,	>	+	9	•	,	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.	>	•	,	,	-1-1	0	,	,	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1.	,	,	,	,	+	0	,	,	0	0	0	0		0

LIII.

16. IV. Milch a), 12 Uhr mittags frisch gemolken. Milch b), vom 15. IV. im Säuerungsstadium, aber noch nicht geronnen. Azidität von b): 0,212 Milchsäure.

												ch		
				_	_	_			5 Min.	1 Std.	11/2 St.	21/2 St.	3 Std.	9 Std.
1.	100	cem	Milch	a	+	1 0	en	b	0	0	0	0	+++	+++
2.	,		,	,	$\dot{+}$	2	٠,	,	0	0	0	0	+++	+++
3.	,	,	•	,	$\dot{+}$	3		>	0	0	0	+++	+++	+++
4.	,	,	,	,	$\dot{+}$	4	>	>	0	0	0	+++	+++	+++
5.	,	,		,	+	5	,	>	0	0	0	+++	+++	+++
6.	,	,		,	+	6	>	,	0	0	+++	+++	+++	+++
7.	,	,	•	,	+	7	,	,	0	+++	+++	+++	+++	+++
8.	,	,	,	>	+	8	,	,	0	+++	+++	+++	+++	+++
9.	,	,	•	,	+	0	,		0	0	0	0	0	0
.0.	Mile	ch b	allein		٠.				+++	+++	+++	+++	+++	+++

# V. Schmutzgehalt und Reduktionszeit.

Schon im Jahre 1886 hat Soxhlet¹) durch einen berühmt gewordenen Versuch den Nachweis erbracht, dass Milch, die in reinlicher Weise gewonnen wird, eine bedeutend größere Haltbarkeit zeigt als die stallüblich, d. h. ohne besondere Vorsichtsmasregeln gemolkene, bei deren Gewinnung also nicht auf Reinhaltung des Euters, Verwendung tadellos gesäuberter Milchgefäse usw. geachtet wurde. Ähnliche Beobachtungen hat dann Renk²) in seiner Arbeit züber die Marktmilch in Halle« veröffentlicht, so dass es keinem Zweisel unterliegen kann, zdass die Kuhmilch um so schneller in Zersetzung übergeht, je größere Mengen von Schmutz sie enthält«

Besonders eingehende Untersuchungen über den Einflus der verschiedenen, beim Melken in Betracht kommenden Faktoren auf den Keimgehalt der Milch, von dem ja ihre Haltbarkeit abhängig ist, verdanken wir jedoch Backhaus.<sup>3</sup>) Nicht nur der Ort, wo gemolken wurde — im Freien, im gereinigten oder

<sup>1)</sup> Soxhlet, Münchner med. Wochenschr., 1886.

<sup>2)</sup> Renk, Münchner med. Wochenschr., 1891.

<sup>3)</sup> Backhaus, Bericht d. landwirtsch. Instituts, Königsberg i. P., 1898.

nicht gereinigten Stalle — prägte sich bei diesen Experimenten sehr deutlich in dem Bakteriengehalte der Milch aus, sondern auch die Art, wie die Tiere gehalten waren, ob sie auf Torf, auf gutem oder schlechtem Stroh standen, geputzt wurden oder nicht, ob trocken oder nafs gemolken wurde, ob die Euter und die Hände des Melkenden vor dieser Prodezur gereinigt wurden, ferner ob die Milch in Emaille, Blech- oder Holzgefäfsen, in sterilisierten oder blofs gespülten Eimern aufgefangen wurde, ob sie endlich nur ein Gefäfs oder eine größere Anzahl derselben zu passieren hatte, — alle diese mannigfaltigen Umstände kamen in dem Bakteriengehalt der Milch zum Ausdruck und zeigten sich somit von größerem Einfluß auf deren Haltbarkeit. 1)

Es erschien daher berechtigt, sich zu fragen, welchen Einfluß denn die Reinheit bzw. der Schmutzgehalt der Milch auf die reduzierende Kraft derselben ausübt.

Um hierüber Aufschlufs zu erlangen, wurden zwei verschiedene Reihen von Experimenten angestellt.

Bei der ersten Gruppe von Versuchen wurde Milch von verschiedenen Kühen, derem Euter vorher mit lauem Wasser gewaschen und abgetrocknet worden waren, in reine Glasgefäße gemolken; zum Vergleich diente die Mischmilch derselben Kühe, welche aus den Melkgefäßen mittels eines (blechernen) Seihrichters in einen großen, ebenfalls blechernen Einer eingefüllt war. (Versuch LIII, LVIII, LIX.)

Mit diesen verschiedenen Milchproben wurde dann der Reduktionsversuch angestellt. Obwohl nun die Mischmilch vor den direkt in die Glaskolben gemolkenen Proben nur die Passage durch den Milchseiher und durch zwei Milchkübel voraushatte, zeigte sich bei derselben doch stets eine deutliche Verkürzung der Reduktionszeit um mehrere Stunden, eine Tatsache, die mit den früher erwähnten Beobachtungen von Soxhlet und Renk aufs beste übereinstimmt. — Eine andere Anordnung zeigte die zweite Reihe unserer Versuche. Es wurde

Analoge Experimente stellten v. Freudenreich (Milchw. Bakteriol) und Levfrèn (Milchzeitung, 1896) an. Zitiert nach Stohmann, Milch u. Molkereiprodukte.

mehr minder frische Milch mit verschiedenen Mengen einer 1 proz. Aufschwemmung von frischem oder altem, getrocknetem Kuhkot bzw. von Stallschmutz versetzt und entweder sofort oder nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 18° C auf ihre Reduktionsgeschwindigkeit untersucht.

Hier waren nun die Ergebnisse verschieden, je nachdem die zu dem Versuche dienende Milch noch arm an Bakterien war und dementsprechend eine geringe Reduktionskraft auswies, oder ob sie bereits durch längeres Stehen relativ keimreich geworden war.

Im letzteren dieser beiden Fälle nämlich war ein merklicher Einfluss der zugesetzten Kotaufschwemmung auf die Reduktionsgeschwindigkeit nicht zu konstatieren. (Versuch XVII, LX, LXI.) Dagegen war die Reduktionszeit beträchtlich abgekürzt, wenn es sich um frische noch wenig Mikroorganismen enthaltende Milch handelte, welche mit der Aufschweinmung von Kuhkot verunreinigt wurde. (Versuch LI, LII, LVIII. LXI, LXIV, LXVIII.) Diese Beobachtung ist offenbar dahin zu deuten, dass die Menge der mit dem Kuhkot in die Milch eingeführten Bakterien nur dann neben der Zahl der bereits in derselben vorhandenen Keime in Betracht kommt, wenn die Milch frisch und arm an Mikroorganismen ist, dass hingegen in der etwas älteren Milch bereits eine so starke Keimvermehrung stattgefunden hat, dass die Menge der im Kote zugesetzten Keime daneben verschwindet und daher auch keinen merklichen Einfluss auf die Reduktionsgeschwindigkeit auszuüben vermag.

Bemerkt sei noch, daß die bei unseren Versuchen in die Milch eingebrachten Kotmengen sehr bedeutende waren (bis über 1 g pro l) und das bei der Marktmilch bekannt gewordene Maximum an Schmutz in einzelnen Fällen um mehr als das Doppelte übertrafen. —

Jedenfalls stehen auch diese Experimente in bester Übereinstimmung mit den oben erwähnten Tatsachen, welche den ungünstigen Einflus des Schmutzgehaltes der Milch auf ihre Haltbarkeit beweisen, indem dieselben zeigen, das die Reduktionszeit durch Verunreinigung der Milch um mehrere Stunden abgekürzt werden kann.

#### XVII.

- 24. III. 1 g frischer Kuhkot wird in 100 ccm Wasser verteilt, gut durchgeschüttelt.
- 1 l Milch, vom Greisler 12 Uhr mittags geholt, wird sukzessive mit steigenden Mengen der Kotaufschwemmung versetzt, derart, daß folgender Schmutzgehalt resultiert.

1)	1	l	Milch	+	0	ccm	Kotaufschwemmung	=	0	mg	Kot
2)	1	,	,	+	1	>	,	-	10	>	>
3)	1:	,	,	+	2	,	,	=	20	,	,
4)	1 :	,	,	+	4		,	=	40	•	,
5)	1 :	•	,	+	8	>	•	=	80	•	,
6)	1	•		+	16	•	,	=	160		,
7)	1 :	,	,	+	32	,	,	=	320	,	

Azidität: 100 ccm Milch = 0,153 Milchsäure.

Reduktion:

Proben 1-7 zeigen gleichmäßig folgendes Verhalten:

Ver-	Nach								
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	6 Stunden	9 Stunden					
1:1	0	0	+++	+++					
1:2	0	0	+	+++					
1:4	0	0	0	+++					
1:8	0	0	0	0					

#### LI.

11. V. Frisch gemolkene Milch (12 Uhr mittags) wird mit einer Aufschwemmung von 1 g Kulikot in 50 ccm Wasser versetzt, derart, daß ein Kotgehalt von 400 mg pro Liter resultiert. Eine Portion der Milch bleibt ohne Zusatz. Aufbewahrt bei 18°C. Nach 24 Std.:

Reduktion:

a) ohne Zusatz

Ver-			Nach		Ver-	1
dünnung	2Std.	4 Std.	6Std.	8 Std.	dünnung	25
1:1	0	0	0	+++	1:1	1
1:2	0	0	0	0	1:2	H
1:4	0	0	0	0	1:4	ŀ
1:8	0	0	0	0	1:8	

b)	mit	Kotzusatz

Ver-		Nach	
dünnung	2 Std.	3 Std.	6 Std.
1:1	0	+++	+++
1:2	0	0	+++
1:4	0	0	+++
1:8	0	0	0

#### LII.

13. V. Frisch gemolkene Milch (12 Uhr mittags) wird mit 0, 80, 160, 240, 320, 400 mg Kuhkot pro Liter versetzt und bis nächsten Morgen bei 10° aufbewahrt.

Reduktion:

			-	
n)	0	nne.	Zusa	tz.

b) mit 80 mg Kot

Ver-		Nac	h	Ver-	Nach					
dünnung	3 Std.	6Std.	9 Std.	dünnung	3Std.	6Std.	8 Std.	9 Std.		
1:1	0	0	+++	1:1	0	0	+++	+++		
1:2	0 .	0	0	1:2	0	0	0	+++		
1:4	0	0	0	1:4	0	0	0	++		
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0	0		

#### c) mit 160 mg Kot

d) mit 240 mg Kot

Ver-			Nach		Ver Nach						
dünn.	3 Std	6 Std.	8 Std.	9 Std.	dünn.	3Std.	6 Std.	7 Std.	9 Std.		
1:1	0	0	+++	+++	1:1	0	0	+++	+++		
1:2	0	0	++	+++	1:2	0	0	0	+++		
1:4	0	0	0	+++	1:4	0	0	0	+++		
1:8	0	0	0	0	1:8	0	0	0	0		

#### e) mit 320 mg Kot

f) mit 400 mg Kot

Ver-	Nach		Ver-	Na	ich
dünnung	6 Stunden	9 Stunden	dünnung	6 Stunden	9 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	+++	1:4	0	+++
1:8	0	. 0	1:8	0	+++

### LVIII.

17. V. mittags. Milch, frisch gemolken. Aufschwemmung 0,5:50 von trockenem Kot, der am Boden des Stalles lag. Zu je 200 ccm wurden zugesetzt: 0, 2, 5, 8, 10 ccm Kotaufschwemmung. Die Proben bleiben 24 Std. bei 18° C.

18. V.

Reduktion:

10	ohno	2 went	

b) mit 2 ccm Kotaufschwemmung

Ver-	N	nelı	Ver		Nach	
dünnung	2 Std	4 Std.	dünnung	2 Std.	3 Std.	5 Std.
1:1	0	+++	1:1	0	+++	1+++
1:2	O	0	1:2	0	0	++-
1:4	0	0	1:4	0	0	++
1:8	0	0	1:8	0	0	0

### c) mit 5 ccm Kotaufschwemmung d) mit 8 ccm Kotaufschwemmung

Ver-	Nach		Ver-	N	ach
dünnung	11/, Stunden	2 Stunden	dünnung	1 Stunde	11/2 Stunder
1:1	++	+++	1:1	++	+++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

### e) mit 10 ccm Kotaufschwemmung

Ver- dünnung	Nach 1 Stunde
1:1	+++
1:2	0
1:4	0
1:8	0

### LIII.

17. V. Milch 1 und 2, direkt in ein Glasgefäß gemolken, 3 aus dem Milcheimer nach vollendetem Melken geschöpfte Mischmilch.

3 Uhr nachm.

Reduktion:

Nr. 1.

Nr. 2.

Ver-		ach	Ver-		ach
dünnung	8 Stunden	12 Stunden	dünnung	8 Stunden	12 Stunden
1:1	0	+++	1:1	0	+++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

Nr. 3, Mischmilch.

Ver-	Nach		
dünnung	8 Stunden	12 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	0	+++	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

### LVIII.

# 19. V.; wie in Versuch LIII. Reduktion:

Nr. 1.

Nr. 2.

Ver- dünnung	91/2 Stunden	13 Stunden	Ver- dünnung		ch 13 Stunden
1:1	0	+++	1:1	0	+++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

Nr. 3, Mischmilch aus dem Eimer.

Ver-		ach
dünnung	91/2 Stunden	13 Stunden
1:1	+++	+++
1:2	0	1 +++
1:4	0	+ .
1:8	0	Ö

LIX.

20. V.; wie in Versuch LIII.

Nr. 1. Nr

Ver-		ach	Ver-		ich
dünnung	12 Stunden	14 Stunden	dünnung	12 Stunden	14 Stunden
1:1	0	+++	1:1	0	+++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

Ver-	Nach		
dünnung	12 Stunden	14 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	0	Ö	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

#### LX.

21. V. Milch vom Milchbauern; 100 ccm mit 2 ccm einer 1 proz Kotaufschwemmung versetzt Sofort untersucht

#### Reduktion:

- a) Kontrolle, ohne Kotzusatz entfärbt nach 6 Std.
- b) mit Kotzusatz

-> 6 **->** 

Bei 18° C aufbewahrt.

22. V. vorm.

#### Reduktion:

- a) Kontrolle, ohne Kotzusatz: entfärbt nach 30 Min.,
- , , 10 , b) mit Kotzusatz

#### LXI.

22. V. Milch vom Milchbauern. 100 ccm mit 5 ccm einer 1 proz. Kotaufschwemmung versetzt. Sofort untersucht.

9 Uhr vorm.

#### Reduktion:

- a) ohne Kotzusatz nach 41/, Std. entfärbt.
- > 41/. >
- 6 Uhr abends. a) ohne Kotzusatz nach 3/, Std. entfärbt,

  - b) mit > 3/4 > >

#### LXI.

23. V. Milch, 12 Uhr mittags frisch gemolken, bis 3 Std. bei 10° gekühlt; je 100 ccm versetzt mit 0, 1, 2, 3, 4 ccm 1 proz. Aufschwemmung frischen Kuhkots. Sofort untersucht.

3 Uhr nachm.

- a) Kontrolle . . . entfärbt nach > 9 Std. (nach 9 Std; blau),
- b) mit 1 ccm Kotaufschw. > > 9 > (nach 9 Std. Kuppe weifs),
- c) , 2 , , 9 ,
- d) > 3 > e) > 4 >
  - Bei 18º C aufbewahrt.

e) , 4 ,

24. V. 8 Uhr 45 Min. früh.

- a) Kontrolle . . . . . . entfärbt nach 4 Std.
- b) mit 1 ccm Kotaufschwemmung c) , 2 , , , 3 ,
- d) . 3 .

### LXIV.

24. V. Milch, frisch gemolken (12 Uhr mittags); bis 2 Uhr nachm, bei 10° aufbewahrt. Darauf je 100 ccm mit 0, 2, 4, 8 und 12 ccm 1 proz. Kotaufschwemmung versetzt. Sofort untersucht,

#### Reduktion:

- a) Kontrolle . . . . . . . entfärbt nach 10 Std.
- b) mit 2 ccm Kotaufschwemmung c) > 4 >
- 8 -5 >
- e) , 12 ,

Bei 18° C aufbewahrt.

25. V. 9 Uhr 40 Min. vorm.

a) L	ontrolle			entfärbt	nach	1 \$1.1	90 16	
a) h	ontrolle			entiarbt	nach	I Std.	20 M	$\mathbf{n}$

# d) + 12 + + + + 1 +

#### LXVII.

25. V. Milch 1 und 2 direkt in Glasgefäße gemolken, 3 Mischmilch von 1 und 2 nach Seihen und Passieren zweier Blechgefäße (12 Uhr mittags). Milch 1 nicht entfährt nach 12 Std.

,	2	,	,	,	12	
	3	entfärht			9	

#### LXVIII.

25. V. Milch vom 24. V., bei 10° aufbewahrt.

Je 150 ccm mit 0, 3, 6 und 9 ccm 1 proz. Kotaufschwemmung versetzt und sofort untersucht.

### Reduktion:

a)	Kontrolle									nach	9	Std.	reduziert,
bi	mit 3 cem	Ko	tai	ifs	chy	ver	nm	un	g	,	6	,	,

/		-	 		-			
e)	,	6	>	,	5	>	,	,

$$d) \rightarrow 9 \rightarrow \cdots \rightarrow 5 \rightarrow \cdots ,$$

### LXIX.

Milch vom 25. V., bei 10° aufbewahrt.

Je 100 ccm mit 0, 2, 4, 6 and 8 ccm 1 proz. Kotaufschwemmung versetzt und sofort untersucht.

# Reduktion:

a) Kon	trolle		•	٠						entfärbt	nach	10	Std.
--------	--------	--	---	---	--	--	--	--	--	----------	------	----	------

b)	mit	2 ccm	Kotaufschwemmung	,	,	8	
63		4 2			,	7	

# VI. Reduktionszeit bei mit Soda versetzter Milch.

Nicht selten wird von den Milchverkäufern kohlensaures bzw. doppelkohlensaures Natron zur Milch hinzugesetzt, um entweder die bei längerer Aufbewahrung eintretende Gerinnung zu verhindern oder um die bereits eingetretene Säuerung zu verschleiern und die Milch auf diese Weise zu zverbessern« bzw. als frisch erscheinen zu lassen. Da nun zwar durch einen mäßigen Sodazusatz das Produkt der bakteriellen Zuckerzersetzung, die freie Milchsäure, neutralisiert wird, aber weder die

Milchsäuregärung selbst, noch die anderen in der Milch auftretenden Zersetzungsvorgänge, noch endlich die Vermehrung der Milchbakterien verhindert wird, so lag es sehr nahe, zu vermuten, dafs auch die Reduktionsprobe bei derartie behandelter Milch nicht wesentlich anders verlaufen dürfte als bei alter, geronnener Milch, und daß man daher in der Bestimmung der Reduktionszeit ein bequemes Mittel zur Hand hätte, den Frischezustand einer Milch zu beurteilen, auch wenn durch die Manipulationen des Verkäufers der Grad ihrer Säuerung verdeckt sein sollte. Die Versuche, welche der Beantwortung dieser Frage dienen sollten, wurden in doppelter Weise angestellt. Bei der ersten Reihe von Experimenten wurde die Milch bei verschiedenen Temperaturen so lange aufbewahrt, bis deutliche Säuerung zu konstatieren war, dann ein Teil derselben mit der entsprechenden Menge Natronlauge oder Sodalösung bis über den Lackmusneutralpunkt hinaus versetzt und schliefslich sowohl mit der sauren wie mit der alkalisch gemachten Probe der Reduktionsversuch angestellt. Wie man sieht, entspricht dieser Versuchsmodus jenem Vorgehen der Milchverkäufer, durch welches bereits sauer gewordene Milch durch Sodazusatz wieder marktfähig gemacht werden soll. Das Ergebnis dieser ersten Reihe von Experimenten (Protokoll XXVII u. a.) lautete nun dahin, dafs in der Tat eine Beeinträchtigung oder Verzögerung der Reduktionsvorgänge durch das zugesetzte Natriumkarbonat keineswegs zu beobachten war. Im Gegenteil zeigte sich häufig eine gewisse Beschleunigung der Methylenblauentfärbung bei der neutralen gegenüber der sauren Milchprobe, die man wohl ungezwungen auf den Wegfall der Hemmungswirkungen wird beziehen können, welche von der freien Säure der geronnenen Milch auf die Stoffwechselvorgänge der Bakterien ausgeübt werden

Ja, selbst wenn man zu einer Probe stark reduzierender saurer Milch so reichlich Natriumkarbonat hinzufügte, daß intensive alkalische Reaktion entstand, und mit dieser dann den Reduktionsversuch anstellte, trat binnen wenigen Minuten eine

prompte Entfärbung des Methylenblaus ein, ein Beweis dafür, dass auch starke alkalische Reaktion an und für sich durchaus nicht imstande ist, den Vorgang der bakteriellen Reduktion irgendwie zu beeinträchtigen. Selbstverständlich wurde bei diesen Versuchen stets auch eine Kontrollprobe mit frischer keimarmer sowie mit gekochter geronnener Milch, die ungefähr auf den gleichen Alkaleszenzgrad gebracht waren, angesetzt, ohne dass jedoch jemals Reduktion eingetreten wäre. Es kann daher die erwähnte Entfärbung des Methylenblaus durch stark alkalisch gemachte saure Milch nicht etwa als ein rein chemischer, durch die Anwesenheit des Alkalis und des Milchzuckers (siehe Einleitung) bedingter Vorgang angesehen werden, sondern derselbe ist nur durch die vitale reduzierende Tätigkeit der Bakterien zu erklären, welche eben - wenigstens solange die letzteren am Leben bleiben - durch das Natriumkarbonat nicht behindert wird.

Bei der zweiten Gruppe von Versuchen (Protokoll XXVIII, XXIX u. ff.) wurde hingegen jenes Verfahren der Milchverkäufer nachgeahmt, bei welchem etwa nachmittags oder abends gemolkene Milch bald nach der Melkung mit Soda versetzt wird, um dieselbe vor der Säuerung zu bewahren und bis zum nächsten Morgen, bis zum Moment des Verkaufs, haltbar zu machen. Dementsprechend wurde eine größere Menge mehr oder weniger frischer, aber noch nicht im Säuerungsstadium befindlicher Milch in eine Anzahl gleicher Portionen geteilt und diese mit steigenden Quantitäten von Natrium carbonicum (bis zu 6,59 pro Liter) oder von Natrium bicarbonicum (bis zu 20 g pro Liter) versetzt. Diese verschieden stark alkalisch gemachten Proben wurden dann bei Temperaturen von ca. 10°, 20° und 37° aufbewahrt und von Zeit zu Zeit auf ihre Reduktionsgeschwindigkeit untersucht.

Im Gegensatz zu den früher mitgeteilten Versuchen an saurer Milch traten hier nun sehr deutliche Hemmungswirkungen bei den stärker alkalisch gemachten Proben zutage.

Dabei stellte sich zunächst ein merklicher Unterschied heraus, je nachdem die Milch, zu welcher der Sodazusatz geschah, bereits sehr bakterienreich war und also von Anfang an nur eine relativ kurze Reduktionszeit aufwies, oder ob dieselbe keimarm war und dementsprechend nur langsam reduzierte.

Im ersteren Falle nämlich, wo bereits eine kräftige Vermehrung der Milchbakterien stattgefunden hatte, bevor das Alkalikarbonat zugesetzt wurde, war der Einfluß desselben nur ein geringer und reichten selbst die beträchtlichen Mengen von 16 g, ja 20 g Natriumbikarbonat pro Liter nicht aus, um eine praktisch in Gewicht fallende Hemmung der Reduktionsvorgänge hervorzurufen, und um die sonst eintretende rasche Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit aufzuhalten (Versuch XL—XLIII).

Anders da, wo es sich um keimarme, langsam reduzierende Milch handelte. Hier waren unter Umständen schon 15 g Bikarbonat pro Liter imstande, den Eintritt der Entfärbung des Methylenblaus um mehrere Stunden zu verzögern, 10 g dagegen noch nicht. (Versuch XLIV, XLVII).

Ganz analog war auch bei den Versuchen mit Natriumkarbonat, da wo es sich um keimreiche Milch handelte, die Menge von 6,5 g noch keineswegs störend, während die Reduktionskraft von keimarmer frischer Milch bereits durch 2,5 g und weniger Natriumkarbonat wesentlich beeinträchtigt wurde. (Vers. XXVIII, XXIX, XLIV, XLVII u. a.)

Die Ursache dieser Differenz ist nicht schwer zu erkennen. Da nämlich, wie Smidt gezeigt hat, die reduzierende Kraft der Milch von der Anzahl der in ihr enthaltenen Keime abhängig ist und da ferner, damit überhaupt eine Entfärbung der vorhandenen Menge Methylenblau eintreten kann, eine gewisse Minimalzahl von Mikroorganismen vorhanden sein muß, so muß der Effekt eines hinzugefügten entwicklungshemmenden Mittels — und ein solches stellt ja das Alkalikarbonat zum mindesten in größeren Dosen dar — ein verschiedener sein, je nach der Menge der in der Milch enthaltenen Bakterien. Ist nämlich die erwähnte, zur Reduktion erforderliche Minimalzahl bereits annähernd in der Milch erreicht, dann wird eine Beeinträchtigung bzw. Verzögerung des

Bakterienwachstums -- vorausgesetzt, daß die übrigen vitalen Funktionen des Bakterienprotoplasmas keine Störung erleiden - eine viel geringere Hemmung der Reduktionsgeschwindigkeit und ihrer Zunahme bewirken können, als wenn nur wenige Keime in der Milch vorhanden sind, die sich erst auf jene Minimalzahl vermehren müssen, ehe sie eine sichtbare Reduktionswirkung entfalten können. Unter diesen Umständen wird keimarme Milch innerhalb der Beobachtungszeit, welche praktisch in Betracht kommt, vielleicht infolge des verlangsamten Bakterienwachstums diese Minimalzahl überhaupt nicht mehr erreichen, während keimreiche Milch trotz der verzögerten Keimvermehrung doch in ihrer Reduktionsgeschwindigkeit nur wenig hinter der nicht mit Karbonat versetzten Milch zurückbleiben kann, da ja, wie wir gesehen haben, die alkalische Reaktion an und für sich kein Hemmis für die bakterielle Reduktion darstellt.

Eine weitere Tatsache, die ebenfalls aus unseren Versuchen hervorgeht, ist der nicht unbeträchtliche Unterschied, der zwischen der hemmenden Wirkung des Bikarbonats und des Karbonats besteht, welch letzteres, entsprechend seiner weit stärkeren Alkalinität schon in viel kleineren Dosen das Reduktionsvermögen der Milch beeinflusst, als das mildere Bikarbonat. Überschreitet die Menge des zugesetzten Salzes eine bestimmte Grenze, so kommen natürlicherweise nicht nur entwicklungshemmende, sondern direkt auch bakterientötende Wirkungen in Betracht, durch welche das Reduktionsvermögen der betreffenden Milchprobe endgültig vernichtet wird. Bevor dieses Stadium erreicht wird, mag es übrigens noch eine Zwischenstufe geben, auf welcher die Mikroorganismen zwar noch nicht getötet sind, aber doch durch das Alkali an der Ausübung ihrer biologischen Funktionen - u. a. an der Zuckervergärung, Säurebildung und an der Methylenblaureduktion - verhindert werden.

Wie stellt sich nun nach allen unseren Versuchen der Wert der Reduktionsprobe zur Erkennung des Frischezustandes einer mit Soda versetzten Milch? Vermag etwa die bei größerem Sodazusatz eintretende Reduktionshemmung die praktische Anwendbarkeit dieser Probe irgendwie zu beeinträchtigen?

Hier ist nun folgendes zu bedenken. Eine Auskunft über das Alter bzw. den Bakterienreichtum einer gegebenen Milch wird im allgemeinen und unter den praktisch in Betracht kommenden Verhältnissen nur dann erwünscht sein und gefordert werden, wenn die Milch in ihrem übrigen Verhalten keinerlei bevorstehende Abnormität erkennen läfst und jedenfalls nicht soviel Soda enthält, daß sich dieser Zusatz schon dem Geschmacksorgane unangenehm bemerkbar macht<sup>1</sup>).

Da ferner die normale Kuhmilch - und um diese dürfte es sich in praxi fast ausschliefslich handeln - nach den Augaben verlässlicher Beobachter (vgl. Stohmann, Milch und Molkereiprodukte, Braunschweig 1898, S. 6) immer amphoter reagiert) also rotes Lackmuspapier bläut und blaues rötet. so wird besonders die Prüfung der Reaktion geeignet sein, über das Bestehen eines abnormen Alkaleszenzgrades Aufschluß zu geben, welcher an und für sich schon, ohne Rücksicht darauf, ob die Milch mehr oder weniger frisch ist, genügt, um dieselbe als unzulässig beanstanden zu lassen. Man wird sich dabei mit Vorteil des blauen Lackmuspapiers bedienen, welches durch den ausbleibenden Farbenumschlag, ja eventuell sogar durch die Zunahme und Vertiefung des blauen Farbentons das Bestehen alkalischer Reaktion anzeigt. Zum Vergleich empfiehlt es sich, stets auch einen Tropfen gewöhnlichen Wassers auf dasselbe Stückchen Lackmuspapier zu bringen.

Nur wenn auf diese Weise festgestellt ist, daß die Milch keine abnorme Reaktion zeigt, wird man zu der Reduktionsprobe greifen, welcher somit die Reaktionsprüfung unter allen Umständen vorausgehen sollte.

Nun haben alle unsere Experimente mit sodaversetzter Milch gezeigt, daß nur in solchen Fällen eine Hemmung

<sup>1)</sup> Dies ist nach Lehmann (Methoden der prakt, Hygiene) bereits bei einem Zusatz von 1 g Soda pro Liter (frischer, nicht saurer) Milch der Fall.

der Reduktionsvorgänge zu beobachten ist, wo stark alkalische Reaktion besteht, daß hingegen die Entfärbung des Methylenblaus ungehindert, d. h. nicht langsamer als bei der Kontrollprobe vor sich geht, wenn die Reaktion sauer, neutral oder selbst schwach alkalisch ist, einerlei, ob das Karbonat hierbei zu einer bereits sauer gewordenen Milch hinzugefügt wurde, oder ob dasselbe erst beim längeren Stehen der Milch durch die Tätigkeit der Milchsäurebakterien ganz oder teilweise wieder neutralisiert wurde.

Auch die Reduktionsbeschleunigung, die, wie wir gesehen haben, bei neutralisierter geronnener Milch öfter zu beobachten ist, kann nicht als Hindernis für die Anwendung der Reduktionsprobe betrachtet werden. Denn einmal ist eine Verkürzung der Reduktionszeit bei einer sehr bakterienreichen Milch, welche an und für sich schon binnen wenigen Minuten, eventuell binnen einer Viertelstunde eine Entfärbung des zugesetzten Methylenblaus bewirkt, praktisch vollkommen irrelevant. Zweitens aber ist zu bedenken, daße in diesem Falle die kürzere Reduktionszeit sogar als das richtigere Resultat anzusehen ist, da ja durch den Sodazusatz die störende und hemmende Säurewirkung ausgeschaltet und also die volle Reduktionskraft der Milch zur Geltung gebracht wird.

Die Reduktionsprobe kann somit unzuverlässige Resultate ergeben, wenn die Reaktion der betreffenden Milch stark alkalisch ist; sie ist jedoch zuverlässig und gestattet ein richtiges Urteil über den Frischezustand bzw. den Bakteriengehalt der Milch, wenn ihre Reaktion neutral, sauer oder höchstens schwach alkalisch befunden wird. Der Grund für dieses Verhalten liegt offenbar in folgendem. Wir haben bereits früher die reduktionshemmende Wirkung des Sodazusatzes zu keimarmer Milch mit den entwicklungshemmenden Eigenschaften dieses Salzes in Verbindung gebracht. Nun ist es klar, daß das Natriumkarbonat nicht als solches entwicklungshemmend und reduktionsverzögernd wirkt, sondern nur insofern als es stark alkalische Reaktion verleiht. Wird dasselbe daher zu einer im Säuerungsstadium befindlichen, also keimreichen Milch in solchem Ausmafse hinzugefügt, daß höchstens eine schwach alkalische Reaktion resultiert, so wird, wie wir dies ja auch konstatiert haben, keine Beeinträchtigung des Reduktionsvermögens eintreten.

Wird dagegen zu einer noch im Inkubationsstadium befindlichen keimarmen Milch von normaler Azidität Soda hinzugefügt, so kann — je nach der Gröfse des Zusatzes — zweierlei eintreten. Entweder ist nämlich die durch denselben erzeugte alkalische Reaktion so intensiv, daß die Milchakterien in ihrer Entwicklung gehemmt werden — dann bleibt natürlich die Reduktion aus; gleichzeitig wird aber auch die Säureproduktion, die ja mit der Vermehrung der Mikroorganismen Hand in Hand geht, unterbunden, und die Milch bleibt infolgedessen stark alkalisch.

Anders, wenn die alkalische Reaktion nicht stark genug ist, um die Vermehrung der Bakterien zu hindern. Dann wird, mit dem Anwachsen der Keimzahl auch die Säureproduktion zunehmen und die alkalische Reaktion immer mehr abstumpfen. Ist dieser Vorgang endlich soweit gediehen, daß die Reaktion der Milch nur mehr ganz schwach alkalisch oder selbst neutral ist, dann ist auch die Keimzahl bereits eine sehr hohe, und dann verrät sich das Alter der Milch auch bereits durch eine kräftige und rasch erfolgende Reduktion des Methylenblaus.

Dies wird noch einleuchtender, wenn man erwägt, dafs zur Neutralisierung eines Sodazusatzes von nur 1 g pro Liter von den Mikroorganismen 1,7 g Milchsäure produziert werden müssen, also für 100 ccm Milch 0,170 g. Würde dieselbe Säuremenge in einer nicht mit Soda versetzten, frischen Milch erzeugt werden, so würde deren Azidität etwa von 0,160 auf 0,330 ansteigen, d. h. dieselbe würde sich bereits tief im Säuerungsstadium befinden, und dementsprechend auch bereits eine hohe Keimzahl und eine sehr kurze Reduktionszeit aufweisen. So kann es also nicht verwundern, wenn auch in der künstlich alkalisch gemachten Milch zu einer Zeit, wo das Alkali bereits wieder neutralisiert und somit eine relativ bedeutende Säuremenge geneutralisiert und somit eine relativ bedeutende Säuremenge ge-

bildet ist, Keimgehalt und Reduktionsgeschwindigkeit einen hohen Wert erreicht haben.

Dadurch, daß wir also in der Lage sind, eben deutlich oder stark alkalisch reagierende Milch von vornherein als unzulässig abzuweisen und von der Reduktionsprobe auszuschließen, fallen somit jene Schwierigkeiten vollkommen hinweg, welche sonst durch die reduktionshemmende Wirkung großer Carbonatmengen erwachsen würden.

Dementsprechend kann man somit auf Grund dieser Tatsachen und Erwägungen folgende Regel aufstellen: Annähernd neutrale Milch, welche große Reduktionskraft zeigt, ist auf jeden Fall als bakterienreich und daher als nicht mehr frisch (im biologischen Sinn) zu bezeichnen, wobei es gleichgültig ist, ob ein Sodazusatz stattgefunden hat oder nicht. Neutral reagierende Milch dagegen, welche nur langsam reduziert, muß als bakterienarm und daher als relativ frisch angesehen werden, da eine hohe Keimzahl sich bei der neutralen oder selbst schwach alkalischen Reaktion ohne weiteres durch große Reduktionsgeschwindigkeit verraten müßte. Allerdings gilt dies nur unter einer Voraussetzung: daß nämlich der Zusatz anderer Konservierungsmittel ausgeschlossen werden kann, welche, ohne die Reaktion der Milch zu verändern, reduktionshemmend wirken könnten. Mit derartigen Mitteln wollen wir uns im folgenden Abschnitt beschäftigen.

#### XXVII.

Milchproben von fünf verschiedenen Greislergeschäften werden durch 6-8 Std. bei 37°C gehalten, dann ihre Azidität bestimmt und der Reduktionsversuch einmal mit der unverändert gelassenen, das andere Mal mit der neutralisierten Milchprobe angestellt.

Reduktion:

b) neutral

Milch 1.

Azidität: 100 ccm = 0,230 Milchsäure.

a) sauer

	.,		-,						
Ver-	Na	eb	Ver-	Nach					
dünnung	15 Min.	20 Min.	dünnung	- 15 Min.	20 Min.				
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++				
1:2	0	+++	1:2	0	++(+)				
1:4	0	0	1:4	. 0	0				
1:8	0	0	1:8	0	0				

Milch 2.

Azidität: 100 ccm == 0,252 Milchsaure.

#### a) sauer

Reduktion:

Ver-	Nach					
dünnung	25 Min.	1 Stunde				
1:1	+++	+++				
1:2	+	+++				
1:4	0	0				
1:8	0	0				

Ver-	Nach					
dünnung	25 Min.	1 Stunde				
1:1	+++	+++				
1:2	0	++				
1:4	0	0				
1:8	0	0				

b) neutral

### Milch 3.

Azidität: 100 ccm = 0,270 Milchsäure.

#### Reduktion:

a) sauer

Ver-	Nach					
dünnung	3 Min.	15 Min.				
1:1	+++	+++				
1:2	0	+++				
1:4	0	0				
1:8	0	0				

Ver-	Nach				
dunnung	3 Min.	15 Min			
1:1	+++	+++			
1:2	0	+++			
1:4	0	0			
1:8	0	0			

b) neutral

Milch 2, etwas länger bei 37°.

Azidität: 100 ccm = 0,302 Milchsäure.

### Reduktion:

#### a) sauer

### b) neutral

Nach 30 Min.

Ver-	Na	ch	Ver-	
dünnung	5 Min.	30 Min.	dünnung	5 Mi
1:1	+++	+++	1:1	++
1:2	0	+++	1:2	+
1:4	0	0	1:4	0
1:8	0	0	1:8	0

### Milch 4.

Azidität: 100 ccm = 0,459 Milchsäure.

### Reduktion:

# b) neutral

Ver- dünnung	Fast momentan	Nach 10 Min.	
1:1	+++	+++	
1:2	0	+++	
1:4	0	0	
1:8	Ū	0	

a) sauer

Ver- dünnung	Fast momentan	Nach 10 Min.	
1:1	+++	+++	
1:2	0	+++	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

Milch 5. Azidität: 100 ccm = 0,464 Milchsäure.

a) sauer

Reduktion:
b) neutral

Ver-	Na	Ver-	
dünnung	3 Min.	15 Min.	dünnung
1:1	+++	+++	1:1
1:2	0	+++	1:2
1:4	0	0	1:4
1:8	0	0	1:8

## XXVIII.

 $1^{4}$ <sub>2</sub> l Milch, um 8 Uhr früh vom Greisler geholt, in zwei Hälften geteilt, die eine mit 5 g Natron carb. (Na<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>) versetzt, die andere ohne Zusatz gelassen; beide sofort in den Brütschrank (37°) gesetzt. Die mit Soda versetzte Probe zeigt widerlichen, laugenhaften Geschmack.

10 Uhr 35 Min. vorm.

a) ohne Soda

Reduktion:

b) mit Soda

Nach

Ver-	Nach		Ver-	Na	ch
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	dünnung	2 Stunden	4 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	. 0	1:8	0	0

Azidität: 100 ccm = 0,171 Milchsäure.

12 Uhr 20 Min. mittags.
a) ohne Soda

Reduktion:

b) mit Soda

Ver-	Nach		Ver-	Nach		
dünnung	40 Min.	21/2 Stunden	dünnung	40 Min.	21/2 Stunden	
1:1	+++	+++	1:1	+++	1+++	
1:2	0	+++	1:2	O	+++	
1:4	0	1+++	1:4	0	0	
1:8	0	0	1:8	0	0	

Azidität: 100 ccm = 0,194 Milchsäure.

3 Uhr nachm.

Reduktion:

a) ohne Soda				b) mit	Soda		
Ver- dünnung	10 Min.	Nach 15 Min.	40 Min.	Ver- dünnung	10 Min.	Nach 15 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++	+++	1:1	++	+++	+++
1:2	+	+++	+++	1:2	0	0	++
1:4	0	0	++	1:4	0	0	0
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0

Azidität: 100 ccm = 0,385 Milchsäure.

4 Uhr nachm.

Reduktion:

a) ohne Soda

b) mit Soda

Ver-		Nach		Ver-		Nach	
dünnung	5 Min	8 Min.	1 Std.	dünnung	5 Min.	8 Min.	1 St
1:1	+++	+++	+++	1:1	+	+++	++
1:2	+	++	+++	1:2	0	0	++
1:4	0	0	+++	1:4	0	0	0
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0

Probe b) ist gegen Lackmus mäßig stark alkalisch.

### XXIX.

11', 1 Milch, 8 Uhr früh vom Greisler geholt, werden in drei gleiche Portionen geteilt; die erste bleibt ohne Zusatz, die zweite wird mit 1,5, die dritte mit 3 g Soda (Na, CO<sub>3</sub>) versetzt und bei 37° bebrütet. Probe 1 zeigt normalen Geschmack; 2 schmeckt schwach, aber nicht unangenehm alkalisch; 3 hat, besonders im warmen Zustand, widerlichen Laugengeschmack.

9 Uhr 30 Min.

Aziditat der Probe ohne Alkalizusatz: 100 ccm = 0,167 Milchsäure.

Reduktion:

a) ohne Zusatz

b) mit 1,5 g Soda

Ver	Nach		Ver-	Na	
dünnung	21/2 Stunden	4 Stunden	dünnung	21/2 Stunden	4 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

c) mit 3 g Soda

Ver-	Nach		
dünnung	21/2 Stunden	4 Stunden	
1:1	+++	+++	
1:2	0	+	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

12 Uhr mittags.

Azidität: 100 ccm = 0,198 Milchsäure.

#### Reduktion:

a) ohne Zusatz

b) mit 1,5 g Soda

Ver-	Nach		Ver-	Nac	
dûnnung	11/2 Stunden	3 Stunden	dünnung	11/2 Stunden	3 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	+++	+++	1:2	+++	+++
1:4	0	++	1:4	0	++
1:8	0	0	1:8	0	0

c) mit 3 g Soda

Ver-	Nach			
dfinnung	11/2 Stunden	3 Stunden		
1:1	+++	+++		
1:2	0	++		
1:4	0	0		
1:8	0	0		

3 Uhr nachm.

Azidität: 100 ccm = 0,439 Milchsaure.

#### XXXXX.

Milch, 4. V. vorm. vom Greisler geholt. Je 200 ccm werden mit 0, 0,4, 0,8 und 1,2 g Natr. carbon.  $(\mathrm{Na_2\,CO_4})$  versetzt und bei Zimmertemperatur (etwa 20°C) aufbewahrt. Die dritte und vierte Probe schmecken stark laugenhaft.

10 Uhr 45 Min. vorm.

Reduktion:

a) ohne Soda

b) mit 0,4 g Soda

Ver-	Nach		Ver-	Nach		
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	dünnung	2 Stunden	4 Stunden	
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++	
1:2	0	+++	1:2	0	+++	
1:4	0	+	1:4	0	+	
1:8	0	2	1:8	0	Ó	

e) mit 0,8 g Soda

d) mit 1,2 g Soda

Ver- Nac		ich	Ver-	Nach	
dünnung	2 Stunden	4 Stunden	dünnung	2 Stunden	4 Stunden
1:1	++	++	1:1	0	++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

3 Uhr 25 Min. nachm.

	Sod	

b) mit 0,4 g Soda

Ver- dünnung	Nach		Ver-	Nach	
	1 Stunde	11/2 Stunden	dünnung	1 Stunde	11/2 Stunder
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	++	1:2	0	++
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

c) mit 0,8 g Soda

d) mit 1.2 g Soda

Ver-	N:	ach	Ver-	Nach	
dünnung	1 Stunde	2 Stunden	dünnung	1 Stunde	2 Stunden
1:1	++	++	1:1	++	++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

6 Uhr 20 Min. nachm.

a) ohne Soda

b) mit 0,4 g Soda

Ver-	Na	ich	Ver-	Ns	ch
dünnung	25 Min.	40 Min.	dünnung	25 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	++	1:2	Ö	++
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	O	1:8	0	0

c) mit 0,8 g Soda

d) mit 1,2 g Soda

Ver-	Na	Nach V		Nach
dünnung	25 Min.	40 Min.	dünnung	40 Minuter
1:1	0	++	1:1	0
1:2	0	0	1:2	0
1:4	0	0	1:4	0
1:8	0	0	1:8	0

Mit Phenolphthalein und Lackmuspapier zum Schlus des Versuchs geprüft, zeigt a) und b) saure, c) und d) alkalische Reaktion.

#### XL.

5. V., Milch, 10 Uhr vorm. vom Greisler geholt. Je 250 ccm mit 0, 0,4 0,6, 0,8, 1.0 und 1,2 g Natr. bicarbonic. (Na HCO<sub>2</sub>) versetzt und bei 22° C aufbewahrt. Probe 5 und 6 schmecken stark laugenhaft, 3 und 4 deutlich, 2 nur schwach alkalisch.

b) mit 0,4 g Soda

10 Uhr 50 Min. vorm.

Reduktion:

Ver.					
	l Na	ch	Ver-	Na	ch
dünnung				11/2 Stunden	
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	++	1:4	0	++
1:8	0	77	1:8	0	++
1:8	1 0	U	1:8	U	U
	e) mit 0,6 g	Soda	d	) mit 0,8 g So	da
Ver-	Na		Ver-	Na	
lünnung	11/2 Stunden	4 Stunden	dünnuug	11/2 Stonden	4 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	+	1:4	0	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
1:8	0	+ 0	1:8	0	o ·
	e) mit 1,0 g S	oda	f	) mit 1,2 g So	da
Ver-	Na	ch .	Ver-	Na	ch
	11/, Stunden			11/2 Stunden	
	1			1	
1:1	(+)++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	+++	
1:2 1:4	0	+++	1:2 1:4	0	+++
1:2	0	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	1:2		
1:2 1:4 1:8	0	0	1:2 1:4	0	+++
1:2 1:4 1:8	0 0	hm. Redu	1:2 1:4 1:8	0	+++
1:2 1:4 1:8	0 0 0 or 30 Min. nac	hm. Redu	1:2 1:4 1:8	0 0 ) mit 0,4 g 80	++ ++ 0
1:2 1:4 1:8 4 Uh	0 0 0 ar 30 Min. nac a) ohne Zus	hm. Redu	1:2 1:4 1:8 ktion:	0 0 ) mit 0,4 g So	++ ++ 0
1:2 1:4 1:8 4 Uh	o 0 0 0 0 o o o o o o o o o o o o o o o	hm. Redu atz	1:2 1:4 1:8 ktion: b	0 0 ) mit 0,4 g So Na 10 Min.	da ch '/2 Stunde
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dünnung	0 0 0 0 or 30 Min. naci	hm. Redu atz	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dünnung 1:1	0 0 ) mit 0,4 g So Na 10 Min.	da ch '/2 Stunde
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dünnung 1:1 1:2	0 0 0 0 10 30 Min. nac a) ohne Zus Na 10 Min. 1	hm. Redu atz	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dünnung 1:1 1:2	0 0 0 mit 0,4 g 80 Na 10 Min. +++	+++ 0  da  ch 1/, Stunde +++
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- donnung 1:1 1:2 1:4	0 0 0 0 a) ohne Zus 10 Min. naci 10 Min. +++	hm. Redu atz	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dünnung 1:1 1:2 1:4	0 0 0 mit 0,4 g 80 Na 10 Min. +++ 0	+++ 0  da  ch 1/2 Stunde +++ 0
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dünnung 1:1 1:2	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	+ 0  hm.  Redu  atz  ch  '/, Stunde  +++  0 0	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dannung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 Na 10 Min. + + + 0 0 0	+++ 0  da  ch '/, Stunde +++ 0 0
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dünnung 1:1 1:2 1:4	0 0 0 0 a) ohne Zus 10 Min. naci 10 Min. +++	+ 0  hm.  Redu  atz  ch  '/, Stunde  +++  0 0	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dannung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 mit 0,4 g 80 Na 10 Min. +++ 0	+++ 0  da  ch '/, Stunde +++ 0 0
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- ddnnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 or 30 Min. nace a) ohne Zus 10 Min.   1	+ 0 0 hm.  Redu atz  ch +/2 Stunde +++ 0 0 Soda ch	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dunnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 Na 10 Min. Na 10 Min. + ++ 0 0 0 0 Na 10 Na School Na	da ch '/, Stunde +++ 0 0 oda ch
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dönnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 or 30 Min. nacia) ohne Zus 10 Min. 1 + + + 0 0 0 0 c mit 0.6 g S	+ 0 0 hm.  Redu atz ch + + + 0 0 Soda ch	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dünnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 Na 10 Min. Na 10 Min. O 0 0 Na	+++ 0  da ch 1/, Stunde +++ 0 0 oda
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- ddnnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 or 30 Min. nace a) ohne Zus 10 Min.   1	+ 0 0 hm.  Redu atz  ch - 1/2 Stunde - + + + 0 0 0 8 oda ch - 1/2 Stunde	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dunnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 Na 10 Min. Na 10 Min. + ++ 0 0 0 0 Na 10 Na School Na	+++ 0  da  ch 1/, Stunde +++ 0 0 0  da  ch 1/, Stunde
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- donnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	+ 0 0 hm.  Redu atz  ch +/2 Stunde +++ 0 0 Soda ch	1:2 1:4 1:8 ktion: b Ver- dannung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 Na 10 Min. Na 10 Min. + + + 0 0 0 0 Na 10 Min. Na 10 Min.	+++ 0  da  ch 1/, Stunde +++ 0 0  oda  ch 1/2 Stunde +++
1:2 1:4 1:8 4 Uh Ver- dünnung 1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + +	1:2 1:4 1:8  ktion:    Verdannung   1:1 1:2 1:4 1:8   defendents   Verdannung   1:1 1:1	0 0 Na 10 Min. +++ 0 0 0 mit 0,8 g Sc Na 10 Min. Na 10 Min. Na 10 Min. Na 10 Min.	+++ 0  da  ch 1/, Stunde +++ 0 0 0  da  ch 1/ <sub>2</sub> Stunde

e) mit 1,0 g Soda

f) mit 1,2 g Soda

Ver-	N	ach	Ver-	Nach	
dünnung	10 Min.	1/2 Stunde	dünnung "	10 Min.	1/2 Stunde
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	++	1:2	0	++(+)
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

6. V., 9 Uhr 55 Min. vorm. Probe a) bis d) dick geronnen; e), f) zeigt, obwohl noch flüssig, beginnende Kaseinabscheidung und gerinnt beim Kochen. Reaktion aller Proben gegen Lackmus; sauer.

Reduktion:

a) ohne	Zusatz	b) mit 0,	g Soda
Ver- dünnung	Nach 15 Min.	Ver- dünnung	Nach 15 Min
1:1	+++	1:1	+++
1:2	+++	1:2	+++
1:4	0	1:4	0
1:8	0	1:8	0
c) mit 0,	6 g Soda	d) mit 0,	3 g Soda
Ver-	Nach	Ver-	Nach
dünnung	15 Min.	dünnung	15 Min
1:1	+++	1:1	+++
1;2	+++	1:2	++
1:4	0	1:4	0
1:8	0	1:8	0
e) mit 1,	g Soda	f) mit 1,5	g Soda
Ver-	Nach	Ver-	Nach
dünnung	15 Min.	dünnung	15 Mir
1:1	+++	1:1	+++
1:2	+++	1:2	+++
1:4	0	1:4	+++
1:8	0	1:8	0

### XLI.

Milch, 5. V. mittags vom Greisler geholt. Hohe Aufsentemperatur. Je 250 ccm mit 0, 0,4, 0,8 und 1,6 g Natr. bicarbon. versetzt und bei 22 ° C aufbewahrt.

12 Uhr 40 Min.

Reduktion:

a) ohne Zusatz			b	mit U,4 g S	oda
Ver- dünnung	Nach 2 Stunden   3 Stunden		Ver- dünnung	Nach 2 Stunden 3 Stunder	
1:1	+++	+++	1 · 1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	o '	+++
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

### c) mit 0.8 g Soda

d) mit 1,6 g Soda

			,,- 8	
Ver- Nach		ch Ver-	Nach 2 Stunden   4 Stunde	
++(+)	+++	1:1	+++	+++
0	+++	1:2	0	++(+)
0	0	1:4	0	0
0	0	1:8	0	0
	2 Stunden ++(+) 0 0	++(+) +++	Nach   Ver-   2 Stunden   3 Stunden     1:2     0	Nach   2 Stunden   3 Stunden     Ver- d\u00e4nnung   2 Stunden     ++++

<sup>4</sup> Uhr 55 Min. nachm.

Reduktion:

# b) mit 0,4 g Soda

Ver-	Nach		
dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde	
1:1	+++	+++	
1:2	0	++(+)	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

a) ohne Zusatz

		110	W.H
	dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde
	1:1	+++	+++
	1:2	0	+++
	1:4	0	0

#### c) mit 08 g Soda

d) mit 16 g Sods

c) mit o, g toda			u	, mit 1,0 g 190	rua .
Ver-	Nach		Ver-	Nach	
dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde	dünnung	1/2 Stunde	1 Stunde
1:1	++(+)	+++	1:1	++(+)	+++
1:2	0	+++	1:2	0	++(+)
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

<sup>6.</sup> V., 10 Uhr 7 Min. vorm.

# Reduktion:

b) mit 0.4 g Soda

		1		
N	ach	Ver-	N	ach
5 Min.	10 Min.	dünnung	5 Min.	10 Min.
+++	+++	1:1	+++	+++
0	++	1:2	0	++:
0	0	1:4	0	0
0	0	1:8	0	0
	5 Min. +++ 0 0	+++ +++	Nach   Ver-   dünnung	5 Min. 10 Min. dünnung 5 Min. +++ + +++

c) mit 0,8 g Soda

d) mit 1,6 g Soda

Ver-	Na	ach	Ver-	N	ach
dünnung	5 Min.	10 Min.	dünnung	5 Min.	10 Min
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	++	+++	1:2	+++	+++
1:4	0	0	1:4	0	i o
1:8	0	0	1:8	0	0

Probe a) und b) ist dick geronnen, c) und d) flüssig, aber mit begin nender Kaseinabscheidung; beim Kochen tritt Koagulation ein. Alle Proben reagieren gegen Lackmus sauer.

### XLII.

V., Milch, um 12 Uhr mittags vom Greisler geholt. (Hohe Aufsentemperatur.) Je 250 ccm werden mit 0, 1,0, 2,0, 3,0 und 4,0 g Natr. bicarbon. versetzt und bei 22° C aufbewahrt.

12 Uhr 10 Min. mittags.

Reduktion:

b) mit 1 g Soda

Ver- dünnung	1 Std.	Nach   2 Std.	21/2 Std.	Ver- dünnung	1 Std.	Nac 2 St
1:1	10	+++	+++	1:1	. 0	1++
1:2	0	0	++	1:2	0	0
1:4	0	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	0	1:8	0	0

c) mit 3 g Soda

d) mit 4 g Soda

Ver- dönnung	1 Std.	Nach 2 Std.	21/2 Std.	Ver- dünnung	1 Std.	Nach 2 Std.	21/2 St
1:1	0	+++	+++	1:1	0	+++	++
1:2	0	0	++	1:2	0	0	+-
1:4	0	0	0	1:4	0	0	0
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0

6 Uhr nachm.

Reduktion:

a) ohne Zusatz b) mit 2 g Soda

Ver-	Na	ich	Ver-	N	ach
dünnung	20 Min.	35 Min.	dünnung	20 Min.	35 Min.
1:1	+++	+++	1:1	+++	1+++
1:2	+++	+++	1:2	++	1+++
1:4	0	+++	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

Archiv f. Hygiene. Bd. LIV.

c) mit 3 g Soda

d)	mit	4 0	Soda

Nach 35 Min.

Ver-	N	ach	Ver-	
dünnung	20 Min.	35 Min.5	dünnung	20 Mir
1:1	+++	+++	1:1	++-
1:2	0	+++	1:2	0
1:4	0	0	1:4	0
1:8	0	0	1:8	0

Probe a) beginnt bereits zu koagulieren, b), c) und d) erscheinen unverandert, c) und d) sind gegen Lackmuspapier alkalisch.

9 Uhr abends.

a) ohne Zusatz

b) mit 2 g Soda

Ver- dünnung	Nach 5 Min.	Ve dünn
1:1	1+++	1:
1:2	+++	1:

c) mit 3 g Soda

Verdünnung 1:1 1:2

Ver-	Nach	
	E 34:	

dünnung	5 Min.
1:1	+++

d) mit 4 g Sod	ia
----------------	----

Nach				
5	Min.			
.+	++			
+	++			

Ver- ünnung	1	Nach 5 Min.	
1:1	T	+++	

### XLIII.

8. V., 12 Uhr vorm., Milch vom Greisler geholt. (Hohe Außentemperatur.) Je 250 ccm mit 0, 2, 3, 4, 5 g Natrium bicarbonic, versetzt und bei 37 ° C aufbewahrt. 12 Uhr 30 Min.

Reduktion:

a) ohne Zusatz

b) mit 2 g Soda

		-20
Nach 1 Stunde	Ver- dünnung	Nach 1 Stunde
+++	1:1	+++
++	1:2	++
0	1:4	0
0	1:8	0
	1 Stunde	1 Stunde dünnung : +++

C) time o g toda		G) III	it ag i waa
Ver- dünnung	Nach 1 Stunde	Ver- dünnung	Nach 1 Stunde
1:1	++++	1:1	+++
1:2	++	1:2	++
1:4	0	1:4	0
1:S	0	1:8	0

e) mit 5 g Soda

Ver-	Nach 1 Stunde
1:1	+++
1:2	++
. 8	0

#### 3 Uhr nachm.

a) ohne Zusatz

h)	mit	20	Sods

Ver-	Na	ch	١
lünnung	1 Min.	5 Min.	١
1:1	+++	+++	١
1:2	+++	+++	ı
1:4	0	+++	ı
1:8	0	0	1

Ver-	Ne	ıch
dünnung	1 Min.	5 Min.
1:1	+++	+++
1:2	0	+++
1:4	0	0
1:8	0	0

# c) mit 3 g Soda

d) mit 4 g Soda

Ver-	Nach			
dünnung	1 Min.	5 Min.		
1:1	+++	+++		
1:2	0	+++		
1:4	0	0		
1:8	0	0		

Ver-	Nach		
dünnung	1 Min. 5 Mi		
1:1	+++	+++	
1:2	o i	+++	
1:4	0	0	
1:8	0	0	

e) mit 5 g Soda

Ver-	Nach		
dünnung	1 Min.	5 Min.	
1:1	+++	+++	Destrict and be destrict
1:2	0	+++	Reaktion von b, c, d, e deutlich
1:4	0	0	alkalisch
1:8	0	0	

# XLIV.

- 9. V., Milch vom Milchbauern, 8 Uhr früh ins Institut gebracht und kaltgestellt. Je  $200~\mathrm{ccm}$  werden
  - 1. mit 0, 2, 3, 4, 5 g Natriumbikarbonat und
  - 2. mit 0,5, 1,0 und 1,5 g Natriumkarbonat

versetzt und bei Zimmertemperatur (18° C) stehen gelassen.

12 \*

### 11 Uhr vorm.

# A. Natriumbikarbonat.

#### Reduktion:

# 1. ohne Zusatz

Ver- dünnung	6 Std.	Nach 73/4 Std.	10 Std.	Ver- dünnung	6 Std.	Nach 73/4 Std.	10 Std.
1:1 1:2 1:4 1:8	++++	+++	+++ +++ +++	1:1 1:2 1:4 1:8	++(+)	+++ 0 0	+++

# 3. mit 3 g Soda

2. mit 2 g Soda

Ver-	Nach		Nach Ver-			Nach		
dünnung	6 Std.	73/4 Std.	10 Std.	dünnung	6 Std.	78/4 Std.	10 Std.	
1:1	0	0	+++	1:1	0	0	+++	
1:2	0	0	+++	1:2	0	0	++	
1:4	0	0	++	1:4	0	0	0	
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0	

Ver-		Nach	
dünnung	6 Stunden	73/, Stunden	10 Stunden
1:1	0	0	+++
1:2	0	0	++
1:4	0	0	0
1:8	0	0	0

# B. Natriumkarbonat. 1. mit 0,5 g Soda 2. mit 1 g Soda

Ver- dünnung	6 Std.	Nach   7º/4 Std.	10 Std.	Ver- dünnung	Nach 10 Stunder
1:1	0	++	+++	1:1	0
1:2	0	0	++	1:2	0
1:4	0	0	0	1:4	0
1:8	0	0	0	1:8	0

# 3. mit 1,5 g Soda

Ver- dünnung		Nach 10 Stunden
1 : 1	7	0
1:2		0
1:4		0
1:8		0

### 10. V., 11 Uhr vorm.

# A. Natriumbikarbonat.

		Reduktion:					
1. ohne	Zusatz		2.	mit	2 g	Soda	

Ver- dünnung	10 Min.	Nach	1 643	Ver- dünnung	10
dunning	10 Min.	20 Min.	1 Ftd.	dannang	10
1:1	+++	+++	+++	1:1	+
1:2	0	+++	+++	1:2	
1:4	0	0	+++	1:4	
1:8	0	0	0	1:8	

Ver- dünnung	10 Min.	30 Min.	
1:1	++	+++	+++
1:2	0	0	++
1:4	0	0	0

3. mit 3 g Soda

4. mit 4 g Soda

Ver-	Nach			
dünnung	35 Min.	1 Std.	11/2 Std.	
1:1	++	+++	+++	
1:2	0	0	++	
1:4	0	U	0	
1:8	0	0	0	

Ver-	Nach				
dünnung	1 Stunde   11/2 Stund				
1:1	+++	+++			
1:2	o ·	++			
1:4	0	0			
1:8	0	0			

5. mit 5 g Soda

Ver-	Nach			
dünnung	1 Stunde	2 Stunder		
1:1	++	+++		
1:2	0	1+++		
1:4	0	0		
1:8	0	0		

# B. Natriumkarbonat.

1. mit 0,5 g Soda

2. mit 1 g Soda

Ver- Nach			Ver-	Nach		
dünnung	3/4 Stunden	1 Stunde	dünnung	1 Stunde	2 Stunden	
1:1	++	+++	1:1	++	++	
1:2	0	+	1:2	0	0	
1:4	0	0	1:4	0	0	
1:8	0	0	1:8	0	0	

Ver- dünnung	Nach			
	1 Stunde	2 Stunden		
1:1	0	0		
1:2	0	0		
1:4	0	0		
1:8	0	0		

Sowohl die mit Karbonat, wie die mit Bikarbonat versetzten Proben zeigten noch deutlich alkalische Reaktion gegenüber Lackmuspspier. Die Probe ohne Zusatz war stark sauer, aber noch nicht geronnen.

#### 11. V., 10 Uhr vorm.

#### A. Natriumbikarbonat.

Reduktion: 1. ohne Zusatz

Ver-	Nach				
dünnung	5 Min.	20 Min.	40 Min.		
1:1	+++	+++	+++		
1:2	+++	+++	+++		
1:4	0	0	1+++		
1:8	0	0	0		

Ver-	Na	ch
dünnung	5 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++
1:2	+++	+++

2. mit 2 g Soda

3. mit 3 g Soda

4. mit 4 g Soda

Ver-	Na	ch
dünnung	5 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++
1:2	++	+++
1:4	0	+++
1:8	0	0

Ver-	Nach			
dünnung	5 Min.	40 Min.		
1:1	+++	+++		
1:2	+	+++		
1:4	Ó	++		
1:8	0	0		

5, mit 5 g Soda

Ver-	Ver-	Nach			1
dünnung	20 Min.		40 Min.	8	
1:1	+++		+++	Probe 1 geronnen, sauer. 2 ganz	
1:2	0		+++	schwach alkalisch, 3, 4 u. 5 stark	
1:4	0	1	0	alkalisch gegenüber Lackmuspapier	
1:8	0	V	0		

### B. Natriumkarbonat.

1. mit 0.5 g Soda

2. mit 1.0 g Soda

Ver-	Nach		Ver-	Nach		
dünnung	5 Min.	20 Min.	dünnung	5 Min.	20 Min.	40 Min.
1:1	+++	+++	1:1	0	1+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	0	+++
1:4	0	0	1:4	0	0	++
1:8	0	0	1:8	0	0	0

3. mit 1,5 g Soda

Ver-	N	ach	
dünnung	40 Min.	2 Stunden	
1:1	+	++	Probe 1 war schwach sauer, 2 und 8
1:2	0	0	stark alkalisch
1:4	0	0	Stark atkillisch
1:8	0	0	

## XLVII.

- $10.\ V.,\ Milch,\ vom\ Milchbauern\ 8$  Uhr früh ins Institut gebracht, bis Nachmittag bei  $10\,^{\circ}$ aufbewahrt. Je 200 ccm werden
  - a) mit 0, 2, 3, 4, 5 g Natriumbikarbonat und
- b) mit 0,5, 1,0 und 1.5 g Natriumkarbonat versetzt und bei 23° C aufbewahrt.
  - 5 Uhr nachm.

## Reduktion:

## A. Natriumbikarbonat.

			188	

4.	ши	2 g	ouu

Ver-	Na	ch	Ver-	Na	ch
dünnung	4 Stunden	12 Stunden	dünnung	4 Stunden	12 Stunden
1:1	+++	+++	1:1	+++	+++
1:2	0	+++	1:2	0	+++
1:4	0	+++	1:4	0	+++
1:8	0	0	1:8	0	0

3. mit 3 g Soda

4. mit 4 g Soda

Ver-	Nach		Ver-	Nach		
dünnung	4 Stunden	12 Stunden	dünnung	4 Stunden	12 Stunden	
1:1	+	+++	1:1	0	+++	
1:2	0	+++	1:2	0	+++	
1:4	0	+++	1:4	0	++	
1:8	0	0	1:8	0	0	

5. mit 5 g Soda

Ver-	Na	ch
dünnung	4 Stunden	12 Stunden
1:1	0	+++
1:2	0	+++
1:4	0	++
1:8	0	0

## B. Natriumkarbonat.

1. mit 0,5 g Soda

2. mit 1,0 g Soda

Ver-	Na	ch	Ver-	Na	ch
dünnung	4 Stunden	12 Stunden	dünnung	4 Stunden	12 Stunden
1:1	+	+++	1:1	0	+
1:2	0	+++	1:2	0	+
1:4	0	+++	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

8. mit 1,5 g Soda

Ver-	Na	ch
dünnung	4 Stunden	12 Stunden
1:1	0	+
1:2	0	Ö
1:4	0	0
1:8	0	0

## 11. V., 12 Uhr mittags.

## A. Natriumbikarbonat. Reduktion:

1. ohne Zusatz

	mit		

Ver-	Na	ch
dünnung	5 Min.	10 Min.
1:1	+++	+++
1:2	++	+++
1:4	0	++
1:8	0	0

- 1	4.61.	7496	LEA
. 1	dünnung	5 Min.	10 Min.
1	1:1	+++	+++
1	1:2	+++	+++
١	1:4	Ò	++
-1	1:8	0	0

3. mit 3 g Soda

4. mit 4 g Soda

Ver-	Na	ch	Ver-	1	
dünnung	5 Min.	10 Min.	dünnnıg	5	
1:1	+++	+++	1:1	+	
1:2	++	+++	1:2		
1:4	0	0	1:4		
1:8	0	0	1:8		

Ver-	Na	ch
dünnnng	5 Min.	10 Min.
1:1	+++	+++
1:2	+	+++
1:4	o	0
1:8	0	0

5. mit 5 g Soda

Ver-	Na	ch	ii .	
dünnung	10 Min.	25 Min.		
1:1	++	+++	(	
1:2	0	0	Probe 1 sauer, 2 schwach	alkalisch
1:4	0	0	3, 4, 5 stark alkalisch.	
1:8	0	0		

#### B. Natriumkarbonat.

1. mit 0.5 g Soda

2. mit 1.0 g Soda

Ver-	Na	ch	Ver-	Nach					
dünnung	5 Min.	10 Min.	dünnung	5 Min.	10 Min.	25 Min.			
1:1	+++	+++	1:1	0	+++	+++			
1:2	0	+++	1:2	0	0	+++			
1:4	0	0	1:4	0	0	0			
1:8	0	0	1:8	0	0	0			

3. mit 1.5 g Soda

Ver-	Na	ch	
dünnung	25 Min.	1 Stunde	
1:1	0	0	1
1:2	0	0	Probe 1 war schwach sauer, 2 und 3
1:4	0	0	stark alkalisch.
1:8	0	0	

## XLVIII.

14. V., Milch vom Greisler nachm. 4 Uhr geholt. Außentemperatur niedrig. Die Milch war im Eiskeller aufbewahrt worden. Zu 1 l werden zugesetzt 0, 1,5 und 2 g Natriumkarbonat. Die Milch bleibt die Nacht über bei 20° C stehen.

15. V., 9 Uhr 35 Min. vorm. a) ohne Zusatz

Reduktion:

(A)	mit	15	C	Sod

Ver-		Nach		Ver-		Nach					
dünnung	30 Min.	40 Min.	11/2 Std.	dünnung	30 Min.	40 Min.	11/2 Std.				
1:1	+++	+++	+++	1:1	+++	+++	+++				
1:2	++	+++	+++	1:2	++	++(+)	1+++				
1:4	0	0	+++	1:4	0	0	++(+				
1:8	0	0	0	1:8	0	0	0				

c) mit 2,0 g Soda

Ver- dünnung	30 Min.	Nach 40 Min.	11/2 Std.	
1:1 1:2 1:4 1:8	0 0 0	++ 0 0 0	+++	Probe a reagiert sauer, b neutral, c stark alkalisch gegen Lack- muspapier.

Vier verschiedene Milchproben, geronnen. Ein Teil derselben wird durch Zusatz von Na, CO, in Substanz stark alkalisch gemacht; ein anderer

wird 10 Min. auf dem Wasserbad gekocht und teils sauer, teils ebenfalls mit Na CO, (nach dem Abkühlen) versetzt, benutzt. Endlich wird zur Kontrolle auch eine frische Milch mit Alkali versetzt.

```
Milch 1 :
```

- a) sauer. in 10 Min. entfärbt.
- b) alkalisch, b 5 >
- c) gekocht, sauer, nach 11/, Std. noch unverändert blau.
- alkalisch, > 11/2 > unverändert.

## Milch 2:

- a) sauer. fast momentan entfärbt.
- b) alkalisch. >
- c) gekocht, sauer nach 11/2 Std. unverändert. alkalisch

#### Milch 3:

- a) sauer, nach 15 Min. entfärbt.
  - b) alkalisch. , 10 ,
- c) gekocht, sauer, > alkalisch. ach 11/2 Std. unverändert.

## Milch 4:

- a) sauer, nach 5 Min. entfärbt.
- b) alkalisch, > 5 >
- c) gekocht, sauer, alkalisch, nach 11/2 Std. unverändert.

## Kontrollmilch, frisch:

- a) ohne Zusatz, nach 11/2 Std. unverändert.
- b) alkalisch.

## 15. V.

- Milch, 24 Std. bei 22° aufbewahrt, geronnen.
  - a) sauer. nach 10 Min. entfärbt.
  - b) alkalisch.
  - c) gekocht, sauer, alkalisch, alkalisch,

## VII. Einfluss der Antiseptica auf die Reduktionsvorgänge.

Nachdem bereits Deutsch 1) den Nachweis erbracht hatte. daß die Reduktionskraft der Bakterien gegen die Einwirkung der Antiseptica sehr empfindlich ist und schon durch geringe Dosen von Resorcin, Phenol, Formol, Thymol, Chloroform usf. vernichtet wird, und nachdem Catheart und Hahn2) diese Erfahrungen vollkommen bestätigt hatten, konnten wir uns damit

<sup>1)</sup> XIII. Congrès internat, de médecine, Paris 1900, Sect. de Bacteriol., p. 184. 2) a. a. O.

begnügen, nur einige wenige Versuche in dieser Richtung anzustellen. Naturgemäß kamen für uns nur solche Antiseptica in Betracht, von denen es bekannt ist, daß dieselben ab und zu zur Milchkonservierung verwendet werden. Wir beschränkten uns daher lediglich auf die Prüfung der Borsäure, der Salicylsäure, des Formalde hydsund des Wasserstoffsuperoxyds.

Versuchsanordnung und Resultate sind aus den folgenden Tabellen zu entnehmen. Die Ergebnisse bieten, wie man sieht, keinerlei Besonderheiten dar, und lassen die reduktionshemmende Wirkung der genannten Antiseptica sehr deutlich hervortreten.

Nur bei den Versuchen mit Formaldehyd kam es, besonders in den ersten Stunden nach dessen Zusatz zur Milch, zu einer Art Interferenz zwischen der fermentativen (von Schardinger beschriebenen) und zwischen der bakteriellen Reduktion, derart, daß die aldehydhaltigen Proben sich meist rascher entfärbten als die Kontrollproben ohne jeden Zusatz. Jedoch war diese »fermentative« Methylenblaureduktion niemals eine so vollständige, indem fast stets ein breiter blauer Ring an der Grenze zwischen Milch und Paraffinöl auch dann noch bestehen blieb, wenn sich die aldehydfreie Probe längst vollkommen entfärbt hatte.

Da durch Zusatz geeigneter Mengen dieser Antiseptica selbst die Reduktionskraft einer keimreichen, schnell reduzierenden Milch fast vollkommen aufgehoben werden kann, so kann also in der Tat hier der Fall eintreten, daß eine alte, dem Säuerungsstadium bereits nahegerückte Milch bei der Reduktionsprobe als frisch und keimarm imponiert. Die Möglichkeit eines Irrtums in der Beurteilung des Frischezustandes der Milch liegt dabei um so näher, als der Nachweis der genannten Antiseptica in der Milch einstweilen noch ein ziemlich komplizierter ist, und jedenfalls nicht so leicht zu führen ist wie der eines ausgiebigen Sodazusatzes.

Glücklicherweise ist ein derartiger Zusatz von antiseptisch wirkenden Mitteln im allgemeinen aber doch recht selten. Es dürfte daher die praktische Verwendbarkeit der Reduktionsprobe dadurch, daß diese in solchem Falle versagen kann, kaum eine wesentliche Einschränkung erleiden.

## Versuche mit Borsäure.

## LXVII.

5. VI. 2 g Borsäure in 50 ccm heifsem Wasser gelöst. Zu je 100 ccm Milch (vom Greisler um 10 Uhr geholt) 10 Uhr 30 Min. zugesetzt: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 ccm Borsäurelösung entsprechend 0, 0,04, 0,08, 0,12, 0,20, 0,24, 0,28%/g Borsäure. Um 11 Uhr wird die Reduktionsprobe angesetzt.

#### Reduktion:

11 Uhr	vor	m.								
Pr	obe	0	0/0	Borsaure	entfärbt	nach	ı		45	Min.
	•	0,04		•	,	•	1 :	Std.	5	•
	,	0,08		•	,	•	1	3	25	•
	•	0,12	•	,	,	,	1	>	35	•
	,	0,16	,	,	•	,	2	•	_	•
	,	0,20	•	•	•	,	2	•	45	•
	>	0,24	•	>	,	•	3	•	-	•
	,	0,28	3 >	•	•	•	3	•	30	•
Die Pro	ben	ble	ibe	n bei 20°	stehen.	4 Uh	r 20	Mi:	n. n	achm.
Pr	obe	0	0/0	Borsaure	entfärbt	nach	1		20	Min.
	•	0,04	,	•	•	>			30	•
	,	0,08	3 >	•	>	•			50	>
	•	0,12		•		>			50	
	>	0,16	•	•		•	1	Std	. 15	•
	•	0,20	) ,	•	•	,	1	-	45	•
	•	0,24		•	•	•	2		_	•
	•	0,28	3 >	•	•	,	2	•	_	,
6. VI,	UI (	ar 30	) M	in. vorm.						
Probe			Bo	rsäure en	tfärbt nac	eh		5	Min	. (koaguliert).
	0,0	4 .		>	<b>,</b> ,			10	•	partiell
•	0,0	8 >		>	<b>&gt; &gt;</b>			10	>	koaguliert.
•	0,1			•	•			20	•	(flüssig).
•	0,1	6 »		>	•			50	>	
•	0,2			•	<b>&gt;</b>	1 8	Std.	_	•	
•	0,2			•	, ,	1	•	_	•	
,	0,2	8 ,		•	, ,	1	,	30	,	

## LXIX.

6. VI. Zu je 100 ccm Milch werden 0, 10, 15 und 20 ccm Borsäurelösung hinzugefügt, entsprechend 0, 0,4, 0,6 und 0,8% Borsäure.

## 12 Uhr 35 Min. mittags.

Probe	0	0/0	Borsäure	entfärbt	nach	1	Std.
•	0,4	>	,		,	3	
•	0,6		•	•	,	4	
,	0.8		,	,	,	5	,

7. VI., vorm.

Probe	0	o/o	Borsäure	entfärbt	nach			2	Min.	(koaguliert).
•	0,4	>	•	•	,			40	,	
•	0,6	,	•	•	,	1	Std.	_	>	
,	0,8	>	,	,	,	2	,	_	•	

## Versuche mit Salizvlsäure.

5. VI. 2 g Salizylsäure in 100 ccm heißen Wassers gelöst und noch warm zu Milch hinzugefügt, und zwar zu je 100 ccm: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 ccm, entsprechend 0, 0,04, 0,08, 0,12, 0,16, 0,20, 0,24 % Salizylsäure.

Reduktionsversuch 11 Uhr 25 Min. angesetzt.

Reduktion:

Probe	0	%	Salizylsäure	entfärbt	nach			50	Min
,	0,04	,	•	,	,	1	Std.	10	,
,	0,08	,	,	•	,	3	>	_	,
•	0,12	,	•	,	,	4	•	_	
•	0,16	,	,	•	,	5	,	_	,
,	0,20	,	,	,	•	6	•	-	,
,	0,24	,	>	,	•	8	,	_	,

Die Proben bleiben bei 20°C stehen.

4 Uhr 7 Min. nachm.

Probe	0	0/0	Salizylsäure	entfärbt	nach			25	Min
,	0,04	,	,	,	,			50	>
,	0,08		•	,	,	1	Std.	45	,
•	0,12	,	•	•	•	2	,	_	•
>	0,16	>	•	,	,	3	,	_	,
,	0,20	,	>	•	•	4	,		,
,	0,24	,	,	,	,	5	,	_	,

. VI., 9	Uhr 30	Min. vorm.						
Probe	0 %	Salizylsäure	entfärbt	nach	1	5	Min.	(koaguliert).
•	0,04 >	,	,	,		20	,	
,	0,08 >	,	•	•		30	,	
•	0,12 >	•	•	,		50	>	
•	0,16	,	•	•	1 Std.	-	•	
•	0,20 >	•	>	,	1 >	45	,	
,	0,24 >	,	,	,	2 ,	30	•	

#### LXX.

6. VI. Zu je 100 ccm Milch werden 0, 10, 15 und 20 ccm Salizylsäurelösung hinzugefügt, entsprechend 0, 0,2, 0,3 und 0,4% Salizylsäure.

Reduktion: 12 Uhr 30 Min. mittags.

Probe	0	%	Salizylsäure			entfärbt	nach	1	Std.
•	0,2	,	>			,	,	3	•
>	0,3	,	•			,	,	9	,
	0,4	,	> noc	h	nich	it »	,	9	•

7. VI., vorm	١.								
Probe 0	0	Salizylsäure	entfärbt	nach			2	Min.	(koaguliert).
, 0,2	•	•	,	,			40	,	
, 0,3	,	>	•	>	2	Std.	30		
> 0,4	,	>	,	,	5	>	-	,	

## Versuche mit Formaldehyd.

#### LXXI.

6. VI. Je 100 ccm Milch werden mit 0 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 uud 1,0 ccm käuflichen Formalins um 12 Uhr 20 Min. versetzt. Bei  $20\,^{\circ}$  C aufbewahrt.

#### Reduktionsprobe:

3	Uhr	nachi	n.		10000	a tioner	,,,,,,			
				0/0	Formalin	entfärbt	nach		30	Min
		,	0,2	>	,	,	>		40	,
		•	0,4	,	,	•	,		40	,
		,	0,6	>	•	•	•	3 Std.	_	,
		•	0,8	>	,	selbe	st nach	16 Ste	d.	
		•	1,0	>	•	nie	ht er	tfärbt.		

7. VI., 9 Uhr vorm.

Probe 0 % Formalin entfärbt nach 2 Min. (koaguliert).

•	0,2 >	>	· · · 40 ·
,	0,4 >	3	)
,	0,6 >	>	nach 6 Std. noch
•	0,8 >	3	nicht entfärbt.
•	1,0 ,	3	,

#### LXXII.

7. VI. Je 100 ccm Milch werden mit 0, 0,1, 0,2, 0,8, 0,4, 0,5 und 0,6 ccm Formalin versetzt; 10 Uhr 30 Min. vorm. Bei 20 $^{\circ}$  C aufbewahrt.

#### Reduktionsprobe:

11 Uhr vorm.

Probe 0 % Formalin entfärbt nach 2 Uhr

,	0.1 >	,	1
,	0,2 >		
,	0,3 >	3	partiell entfärbt nach 1 Uhr;
•	0,4	>	aber selbst nach 8 Uhr noch
,	0,5 >	>	immer breiter blauer Ring.
,	0.6 >	3	

3 Uhr nachm.

Probe 0 % entfärbt nach 25 Min.

8. VI., 9 Uhr vorm.

```
Probe 0 % geronnen; entfärbt nach 5 Min

0,1 
0,2 
0,3 
0,4 
0,5 

auch nach 6 Uhr nicht entfärbt.
```

## Versuche mit Wasserstoffsuperoxyd.

#### LXXIV.

7. VI. Zu je 100 ccm Milch werden 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 ccm 3°/<sub>o</sub> Losung von Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt; 11 Uhr 30 Min. Bei 20° C aufbewahrt.

#### Reduktionsprobe:

12 Uhr 30 Min. mittags.

0.6 >

CIII OO	747.4	ц. ш	ittage.	
Probe	0	ccm	Wasserstoffsuperoxyd	entfärbt nach 2 Uhr
>	2	,	,	
>	4	>	,	
,	6	,	,	selbst nach 10 Uhr
•	8	,	, }	nicht entfärbt.
•	10	,	,	
,	12	,	,	
,	14	,	, ,	

8. VI., vorm.

Probe 0 ccm Wasserstoffsuperoxyd entfärbt nach 5 Min.; geronnen.

	2	,	,	,	,	1 8	Std.	
	4	>	,	•	,	3	,	
,	6	,	,	,	>	5	,	
	8	,	•	,	,	8	,	
	10	>	•	>	,	10	,	
,	12	,	•	1	10	***	1.1	
	4.4			nacn	10	var	blau.	

#### LXXV.

8. VI., 11 Uhr vorm. Milch vom Greisler; je 100 ccm mit 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 und 3,0 ccm  $1^{\circ}/_{\circ}$  Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. Bei 20° C aufbewahrt.

#### Reduktionsversuch:

12 Uhr mittags.

Probe	0	cem	Wasserstoffsuperoxyd	entfärbt	nach	10	Min.	
•	0,1	>	,	>	>	10	>	
•	0,5	,	,	,	,	2	Std.	
,	1,0	,	•	,	•	4	>	
>	2,0	,	•	>	>	8	>	
•	3,0	,	•		,	8	,	blau.

#### 9. VI., vorm.

Probe	0	ccm	Wasserstoffsuperoxyd	entfärbt	nach		
,	0,1		,	•	•		Q Min
,	0,5	3	,	>		ì	2 Min. koaguliert.
•	1,0	3	,	3	•		Koagunert.
>	2,0	,	3	,	,	1	Std.
,	3,0	,	•	,	•	3	>

## VIII. Reduktionsvermögen erhitzter Milch.

Zum Schluss seien noch einige Versuche über die reduzierende Kraft von Milchproben mitgeteilt, welche durch 15 bis 30 Minuten im Dampstopf erhitzt und dann bei verschiedenen Temperaturen: 37°, 22° und 18° aufbewahrt wurden.

Bekanntlich hat bereits Flügge in seiner Arbeit über die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung mit Nachdruck betont, daß die üblichen Verfahren der Milchsterilisation — vor allem das einfache Aufkochen und die Soxhletsche Methode, aber auch das <sup>3</sup>/<sub>4</sub> Stunden lang andauernde Erhitzen — zwar einen großen Teil der in der Milch vorhandenen Bakterien abzutöten gestatten, daß aber dabei doch gewisse sporenbildende Arten, vor allem die sog. »peptonisierenden Bakterien« am Leben bleiben, welche dann bei längerer Aufbewahrung der »sterilisierten« Milch schrankenlos wuchern und oft, ohne das äußere Ansehen derselben zu verändern, schwere Zersetzungen hervorrufen können.

Unsere Experimente zeigen nun dementsprechend, daß auch bei der erhitzten Milch, welche anfangs nur sehr langsam reduziert, allmählich wie der eine Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit auftritt und zwarschneller bei den in der Wärme aufbewahrten Proben, als bei kühl gehaltenen.

Milch, 17. V., 10 Uhr vorm. vom Greisler geholt. 20 Min. lang im Dampftopf sterilisiert; darauf bei 37° aufbewahrt.

	3 Uhr nachi	n. Redul	ction:	5 Uhr nachm	
Ver- dünnung	Na 6 Stunden	ch 8 Stunden	Ver- dünnung	Na 3 Stunden	ch   6 Stunden
1:1	0	0	1:1	0	+++
1:2	0	0	1:2	0	0
1:4	0	0	1:4	0	0
1:8	0	0	1:8	0	0

Um 11 Uhr nachts wird die Milch aus dem Brutschrank genommen und bei 18° aufbewahrt.

18. V., 10 Uhr vorm. Milch nicht geronnen.

Reduktion:

Ver-	Nach					
dünnung	40 Min.	1 Stunde				
1:1	+++	+++				
1:2	o ·	+++				
1:4	0	0				
1:8	0	0				

#### LXV.

Milch, 18. V., vom Greisler geholt, 20 Min. im Dampftopf sterilisiert, und zwar in 3 Portionen, deren eine bei 37°, die zweite bei 22°, die dritte bei Zimmertemperatur (ca. 18°C) aufbewahrt wird.

## Reduktion:

1.	Probe	37°	red	nziert	nach	5 8	td.	30 N	Iin
2.	,	220		,	,	7	,	30	,
3.	•	18°		,	•	9	,	_	,
	1. Pi	robe	37°	reduz	iert r	ach	3	Std.	
	2.	,	22 0	,		•	3	,	
	3.	,	18°	,			2	,	
	1. Pr	obe	37°	)					
	2.	,	22°	} re	duzie	rt 1	nac	h 18	3td.
	3.	•	180	)					
	2.	2. 3. 3. 1. Pr 2. 3. 1. Pr 2.	2. , 22° 3. , 18°  1. Probe 2. , 3. , 1. Probe 2. ,	2. , 22° 3. , 18°  1. Probe 37° 2. , 22° 3. , 18°  1. Probe 37° 2. , 22°	2. , 22° , 3. , 18° ,  1. Probe 37° reduz 2. , 22° , 3. , 18° ,  1. Probe 37° , 2. , 22° }  reduz 2. , 22° , 3. , 18° ,	2. , 22° , , , , , , , , , , , , , , , , ,	2. , 22° , , 7 3. , 18° , , 9  1. Probe 37° reduziert nach 2. , 22° , , , 3. , 18° , ,  1. Probe 37° 2. , 22° } reduziert t	2. , 22° , , 7 , 3. , 18° , , 9 , 1. Probe 37° reduziert nach 3 2. , 22° , , 3 3. , 18° , , 2  1. Probe 37° 2. , 22° } reduziert nach 3 2. , 22° , , 3 3. , 18° , , 2	3. 18° , 9 , —  1. Probe 37° reduziert nach 3 Std. 2. 22° , 3 , 3. 18° , 2 ,  1. Probe 37° 2. 22° } reduziert nach 1 Std.

## LXIII.

Milch vom Greisler, 22. V., mittags durch 20 Min. im Dampftopf sterilisiert; in 3 Portionen, die bei 37°, 22° und 18° aufbewahrt werden.

23. V. Alle Proben flüssig, unverändert.

1. Probe 37° entfärbt nach 1 Std. 30 Min.

2. , 22° selbst nach 6 Std. nicht entfärbt.

3. • 18°

Probe 1 und 2 koaguliert.

#### LXVI.

24. V. Milch vom Greisler, in 3 Portionen durch 15 Min. im Dampftopf sterilisiert; Aufbewahrung bei 37°, 22° und 18°.

25. V. Alle Proben flüssig, unverändert.

1. Probe 37° entfärbt nach 6 Std.

2. , 22° , , 12 ,

3. > 18° noch nicht vollk. entfärbt nach 14 Std.

Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

26. V., 9 Uhr vorm. Alle Proben flüssig, unverändert.

1. Probe 37° entfärbt nach 6 Std.

1. Probe 30° entfärbt nach 6 Std

3. > 18° > > 10 >

#### LX VII.

Milch vom Greisler, 2. VI., vorm. geholt. Je 3 Portionen durch 20 Min im Dampftopf sterilisiert und bei 37°, 22° und 18° aufbewahrt.

3. VI. Alle Proben flüssig, unverändert.

1. Probe 37° entfarbt nach 1 Std. 45 Min.

2. > 22° > 11 > - > 3. > 18° > 11 > - >

4. VI.

Probe 37° geronnen; entfärbt nach
 Min.

2. , 22° , , 6 Std. — , 3. , 18°

3. • 1 5. VI.

2. Probe 22° entfärbt nach 30 Min. Beginn der Gerinnung.

3. > 18° > > 6 Std.

#### LXIII.

4. VI. Milch vom Greisler, 20 Min. im Dampftopf sterilisiert. Bei  $37^{\circ}$ ,  $22^{\circ}$  und  $18^{\circ}$  aufbewahrt.

5. VI.

1. Probe 37° entfärbt nach 5 Std.

2. , 22° , , 10 ,

3. > 18° > 10 >

### LXXVI.

 VI. Milch von Greisler, 20 Min. im Dampftopf erhitzt. Aufbewahrt bei 37°, 22° und 18°.

7. VI., vorm.

Probe 37° Reduktion nach 1 Std.

220 , 6

18° nach 6 Std. noch nicht reduziert, hingegen nach 12 Std.

#### LXXVII.

 VI. Milch vom Greisler, 30 Min. im Dampftopf erhitzt. Aufbewahrt bei 37°, 22° und 18°.

8. VI., vorm.

Probe 37° Reduktion nach 4 Std.

, 22° , , 5 ,

• 18° · • 5 •

## IX. Verwendung der Reduktionsprobe im Haushalt.

Die bisher von uns mitgeteilten Versuche verfolgten den Zweck, die Reduktionsprobe zu einer im Laboratorium verwendbaren Untersuchungsmethode auszuarbeiten und deren Leistungsfähigkeit und ihre Grenzen zu ermitteln.

Nun wäre es gewifs in hohem Grade wünschenswert, auch im Haushalt eine leicht zu handhabende und mit den in jeder Küche vorhandenen Mitteln auszuführende Methode zu besitzen, welche es gestattet, sich wenigstens im groben rasch über den Frischezustand einer Milch zu orientieren. Vor allem ware eine derartige Methode dort ein Bedürfnis, wo die betreffende Milch als Säuglingsnahrung zu dienen hat, da ja der Säugling selbst geringgradigen Veränderungen und Zersetzungen dieses Nahrungsmittels gegenüber bei weitem empfindlicher ist als das ältere Kind oder der Erwachsene. Auch dann, wenn die Milch dem Säugling stets nur in sorgfältig abgekochtem Zustande gereicht wird, wäre eine derartige vorausgeschickte Prüfung ihres Zustandes durchaus nicht überflüssig, da ja durch das Kochen zwar der größte Teil der Bakterien getötet wird, aber deren giftige Stoffwechselprodukte und Leibesbestandteile doch wohl nur zum Teile für die empfindliche Darmschleimhaut des Säuglings vollkommen unschädlich gemacht werden können.

Ich habe daher auf den Rat von Prof. Prausnitz versucht, die Reduktionsprobe auch für den Haushalt verwendbar zu machen, wozu es natürlicherweise einiger Umgestaltung und Vereinfachung der Methodik bedurfte.

An Stelle der im Laboratorium benutzten Reagensgläser benutzte ich kleine 10—20 g fassende Apothekerfläschehen, wie dieselben ja in fast jedem Haushalt vorhanden sein werden, oder doch wenigstens ohne Schwierigkeit beschafft werden können.

Etwas schwieriger schien es, den für den Reduktionsversuch unumgänglich notwendigen Thermostaten zu ersetzen. Es ließ sich jedoch auch hier ein sehr einfacher Ausweg finden, indem sich nämlich ein  $2^{1}/_{2}$  bis 3 l fassender Kochtopf, der mit auf  $40^{\circ}$  C erwärmtem Wasser gefüllt wurde, als vollkommen genügender Ersatz des Brutschrankes bewährte.

Die Methylenblaulösung, die sich für diese Versuchsanordnung eignet, hat folgende Zusammensetzung:

> Methylenblau 0,02 g Aqu. destill. 100 g.

Zum Luftabschlufs kann (an Stelle des Paraffinöls) gewöhnliches Speiseöl verwendet werden. Sowohl die Farbstofflösung wie das Öl werden zweckmäßigerweise alle paar Tage durch 5—10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gesetzt, um eine etwaige reichlichere Entwicklung von Mikroorganismen zu verhindern, die den Verlauf der Reduktionsprobe beeinflussen könnten.

Die zur Anstellung der Probe erforderlichen Requisiten sind dementsprechend die folgenden:

- 1. Einige Arzneifläschchen zu 10-20 g.
- Ein 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>—3 1 fassender Kochtopf mit 40 grädigem Wasser (nach Réaumur 32°).
- Ein Fläschchen mit der Methylenblaulösung (in der Apotheke machen zu lassen).
- 4. Ein Fläschehen mit Ol.

Die Ausführung selbst gestaltet sich wie folgt: Eines der Arzneifläschchen wird zur Hälfte mit der zu untersuchenden Milch angefüllt. Hierzu werden (event. mit einem sog. Augentropfgläschen) 10-15 Tropfen der Methylenblaulösung hinzugesetzt, so daß die Milch eine blaßtürkisblaue Färbung annimmt, und dann so viel Öl daraufgeschichtet, daß dasselbe ungefähr die Höhe von 1 cm einnimmt, Das Fläschehen wird dann mit einem Korkpfropfen fest verschlossen und sofort aufrecht in den mit warmem Wasser gefüllten Topf gestellt, wo es infolge der Schwere seines Inhalts ohne weiteres am Boden stehen bleibt. Der Topf wird dann, mit einem Deckel bedeckt, eine Stunde lang sich selbst überlassen, und nur von Zeit zu Zeit geöffnet, um festzustellen, wieweit die Entfärbung des Methylenblaus bereits vorgeschritten ist. Die Reduktion kann als beendigt gelten. wenn die Farbe der Milch wieder die ursprüngliche, gelblichweiße geworden ist. Ein ganz schwach blauer Saum an der Grenze von Milch und Öl kann dabei vernachlässigt werden.

Es musste nun nur noch festgestellt werden, wie sich denn die Reduktionszeiten bei dieser etwas abweichenden Methodik gestalten. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Parallelversuchen angestellt, indem ein und dieselbe Milch gleichzeitig nach dem eben beschriebenen Verfahren und nach der früher eingehaltenen >Laboratoriumsmethode« untersucht wurde. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den nachfolgenden Protokollen niedergelegt.

Dieselben lassen sich kurz dahin zusammenfassen, daß die Entfärbung des Methylenblaus bei Verwendung der »Laboratoriumsmethode« nicht unerheblich langsamer vor sich geht, als bei Benutzung des für den Haushalt ausgearbeiteten Verfahrens. Diese zunächst vielleicht etwas auffallende Tatsache findet ihre Erklärung wohl in dem Zusammenwirken mehrerer, die Reduktion begünstigender Umstände hei dem letzteren.

Zunächst kommt hier in Betracht die höhere Temperatur des Wassers (40°), in welches die Fläschchen eingesetzt werden, gegenüber dem auf 37° einregulierten Thermostaten¹), ein Vorteil, der allerdings durch die allmählich eintretende Abkühlung des Wassertoples bald wieder wettgemacht wird. Von noch größerem Einfluſs ist jedoch der Umstand, daſs die Fläschchen in der großen Menge warmen Wassers bedeutend schneller erwärmt werden und die Temperatur der Umgebung annehmen, als in der Luſt der Thermostaten, so daſs also die für die Reduktionsvorgängeoptimale Temperaturim ersteren Falle viel früher erreicht wird als im letzteren. Endlich hat vielleicht auch die Verwendung größerer Milchmengen (5—10 ccm) bei der Fläschchenmethode einen gewissen

<sup>1)</sup> So schreiben Cath cart und Hahn in ihrer oben zitierten Arbeit: Im übrigen ist es sicher zweckmäßig, die Reduktionsversuche bei 40° anzustellen, da jedenfalls alle Temperaturen unter 40° eine bedeuten de Verlangsamung der Reduktionszeit hervorrufen.

beschleunigenden Einflufs auf die Entfärbung des Methylenblaus. Wie dem auch sei, jedenfalls tritt die Reduktion bei der »Fläschehenmethode« stets schon früher ein als bei dem anderen Verfahren, dessen wir uns für die Laboratoriumsversuche bedient hatten, eine Tatsache, die, wie wir gleich des Näheren erörtern wollen, nur von Vorteil für diese Methode sein kann.

Wie wir nämlich bei unseren früheren Versuchen gesehen haben, zeigt eine Milch, welche sich am Ende des Inkubationsstadiums oder im Beginn des Säuerungsstadiums befindet, bei Verwendung der »Laboratoriumsmethode« eine Reduktions. zeit von ca. 1 Stunde. Ist daher nach diesem Zeitraum noch keine Entfärbung des Methylenblaus eingetreten, so wird man zu dem Schlusse berechtigt sein, dass die betreffende Milch jedenfalls noch nicht in dem Stadium lebhafter Milchsäuregärung begriffen ist und also wenigstens nicht als absolut schlecht und für die Säuglingsernährung unbrauchbar angesehen werden kann. Dieser Schlufs wird um so zwingender sein, wenn die Milch auch bei der Fläschchenmethode nach einer Stunde ihre blaue Färbung unverändert beibehalten hat, da bei diesem Verfahren ja die Farbstoffreduktion, wie wir bereits betont haben, merklich rascher verläuft, und daher eine Milch. welche die Probe bestanden hat, um so weiter von dem Beginn des Säuerungsstadiums entfernt sein muß. Es verleiht also die Fläschchenmethode - unter der Voraussetzung, daß als Grenzwert die Reduktionszeit von einer Stunde angenommen wird, - eine größere Sicherheit dafür, daß die Milch noch nicht in Zersetzung übergegangen ist und auch nicht am Beginn der Säuerungsperiode angelangt ist. Selbstverständlich steht dem nichts im Wege, den Reduktionsversuch gelegentlich auch über mehr als eine Stunde auszudehnen; nur muß zu diesem Zwecke das erkaltete Wasser des Topfes gewechselt und durch 40 gradiges ersetzt werden.

Da jedoch im allgemeinen eine möglichst rasche Entscheidung darüber, ob die Milch noch zur Säuglingsernährung tauglich sei oder nicht, sehr erwünscht sein dürfte, so glaube ich, daß man sich wohl in den meisten Fällen darauf beschränken dürfte, die Probe nur auf den Zeitraum einer Stunde auszudehnen.

Die Reduktionsprobe in ihrer für die Ausführung im Haushalt modifizierten Form gibt also nur darüber Aufschluß, ob eine Milch bereits in das Säuerungsstadium eingetreten ist, bzw. sich am Ende des Inkubationsstadiums befindet oder nicht. Wieweit dagegen eine Milch, die zur Entfärbung des Methylenblaus mehr als eine Stunde benötigt, von dem Ende des Inkubationsstadiums entfernt ist, darüber vermag dieselbe natürlich keinen Aufschluß zu geben. Denn auf die genauere Bestimmung der Reduktionszeiten, die über eine Stunde hinaus liegen, wird man, wie gesagt, im Haushalt wohl in den meisten Fällen verzichten müssen.

Es ist keine Frage, daß diese durch die praktischen Bedürfnisse gegebene Einschränkung der Leistungsfähigkeit unserer Methode einen gewissen Nachteil darstellt. Da dieselbe jedoch immerhin bereits zu einer Zeit, wo weder das Geschmacksorgannoch die Säuretitrationeine wesentliche Veränderung der Milch erkennen lassen, gestattet deren bevorstehende rasche Zersetzung vorauszusehen, da sie ferner im Gegensatz zu den anderen Methoden — z. B. der Plautschen (bzw. Soxhletschen) die ja chemische Schulung voraussetzt — höchst einfach zu handhaben ist, so glaube ich doch, daß dieselbe im Haushalt unter Umständen wertvolle Dienste zu leisten imstande sein dürfte, und daß jedenfalls ein Versuch mit derselben empfohlen werden kann.

Im Anhang teile ich nun noch eine für das Laienpublikum berechnete Anleitung zur Ausführung der Reduktionsprobe mit.

# Anleitung zur Prüfung der Milch auf ihren Frischezustand (Reduktionsprobe).

Zur Ausführung dieser Probe ist erforderlich:

- 1. ein Arzneifläschehen zu 10-20 g, mit Korkpfropfen,
- ein 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>—3 Liter fassender Kochtopf voll warmen Wassers von 40° C (32° R)
- 3. Methylenblaulösung.

Rezept für die Apotheke:

Methylenblau

0,0**2** g

Aqu. dest. 100 g

4. Speiseöl (Olivenöl, Sesamöl, Kürbiskernöl u. dgl.).

Ausführung:

Das Arzneifläschchen wird zur Hälfte mit der zu untersuchenden Milch (natürlich im nicht abgekochten Zustand) gefüllt. Dazu kommen 10—15 Tropfen der Methylenblaulösung (ev. mittels eines Augentropfgläschens einfließen gelassen), so daß die Milch eine lichttürkisblaue Farbe annimmt, und darüber wird eine etwa 1 cm hohe Ölschicht gegossen. Das verkorkte Fläschchen wird sofort in den Topf mit warmem Wasser gesetzt, welcher mit dem Deckel bedeckt stehen gelassen wird. Von Zeit zu Zeit wird das Fläschchen herausgenommen und nachgesehen, ob die Milch noch blau ist oder bereits wieder ihre natürliche Farbe angenommen hat. Milch, welche binnen einer Stunde wieder weiß geworden ist, ist als Säuglingsnahrung nicht zu verwenden.

Sowohl das Öl wie die Methylenblaulösung sind alle paar Tage durch 5—10 Minuten in einen Topf mit kochendem Wasser zu stellen. Die Arzneifläschchen sind nach dem Gebrauch gut zu reinigen und ebenfalls mit heißem Wasser auszuspülen.

## 17. V. Milch I: LIV. Reduktion:

tebuarion.					
a) bei 37° im Brutschrank gewöhnl. Methodik.	b) im Fläschchen; Temp. des Wassers: 40°.				
Entfärbung nach 12 Min.	Entfärbung nach 5 Min.				
Milch II: a) Entfärbung: 1 Std. 5 Min.	b) Entfärbung nach 55 Min.				
Mileh III: a) Entfärbung nach 50 Min.	b) Entfärbung nach 30 Min.				

## LV.

## Milch 1 friech gemolken. Milch 2 im Säuerungsstadium, aber noch nicht koaguliert.

Azidität von 100 ccm der Milch 2 = 0,270 Milchsäure.

## Reduktion:

a) bei 37° im Brutschrank	b) in Fläschcheu; Temp. des		
gewöhnliche Methodik.	Wassers 40°.		
1. Mileh 2. Entfärbung nach 15 Min.	Entfärbung nach 5 Min.		
<ol> <li>Gemisch von 2 Teilen Milch 2 +</li></ol>	8 Teile Milch 1.		
Entfärbung nach 1 Std.	Entfärbung nach 35 Min.		
3. Gemisch von 4 Teilen Milch 2 +	6 Teile Milch 1.		
Entfärbung nach 28 Min.	Entfärbung nach 20 Min.		
4. Gemisch von 6 Teilen Milch 2 +	4 Teile Milch 1.		
Entfärbung nach 17 Min.	Entfärbung nach 12 Min.		
5. Gemisch von 8 Teilen Milch 2 +	2 Teile Milch 1.		
Entfärbung nach 10 Min.	Entfärbung nach 10 Min.		

#### LVI

## 18. V. 3 Milchproben vom 17. V.

a) bei 37° im Brutschrank, gewöhnliche Methodik.	b) Fläschchen; Wasser- temperatur 40°.		
Mileh 1: Entfärbung nach 17 Min.	Entfärbung nach 10 Min.		
Milch 2: Entfärbung nach 30 Min.	Entfärbung nach 15 Min.		
Milch 3: Entfärbung nach 17 Min.	Entfärbung nach 10 Min.		

## LVII.

19. V.		
a) bei 37° im Brutschrank.	b) Fläschchen; Wasser- temperatur 40°.	
Mileh 1: Entfärbung nach's Min.	Entfärbung nach 3 Min.	
Milch 2: Entfärbung nach 12 Min.	Entfärbung nach 5 Min.	
Mileh 3: Entfärbung nach 40 Min.	Entfärbung nach 30 Min.	
Mileh 4: Entfärbung nach 25 Min.	Entfärbung nach 15 Min.	
Mileh 5: Entfärbung nach 1 Std. 10 Min.	Entfärbung nach 45 Min.	
Milch 6: Entfärbung nach 40 Min.	Entfärbung nach 25 Min.	
Mileh 7: Entfärbung nach 25 Min.	Entfärbung nach 15 Min.	
Milch 8: Entfarbung nach 25 Min.	Entfärbung nach 15 Min.	

22. V.	· September 1
a) bei 37° im Brutschrank.	b) Flaschchen; Wasser- temperatur 40°.
Mileh 1: Entfärbung nach 3/4 Std.	Entfärbung nach 1/2 Stil
Milch 2: Entfärbung nach 15 Min.	Entfärbung nach 10 Min.
Milch 3; Entfärbung nach 60 Min.	Entfärbung nach 45 Min.
Milch 4: Entfärbung nach 11/2 Std.	Entfärbung nach 11/4 Std.
Milch 5: Entfärbung nach 1 Std.	Entfärbung nach 30 Mins
Milch 6: Entfärbung nach 35 Min.	Entfärbung nach 20 Min.
Mileh 7: Entfärbung nach 1 Std.	Entfarbung nach 35 Min.
Milch 8: Entfärbung nach 3/4 Std.	Entfarbung nach 35 Min.
a) bei 37° im Brutschrank.	b) Flaschchen; Wasser- temperatur 40°,
Mileh 1: Entfärbung nach 45 Min.	Entfärbung nach 35 Min.
Milch 2: Entfärbung nach 20 Min.	Entfärbung nach 15 Min.
Milch 3: Entfärbung nach 20 Min.	Entfärbung nach 15 Min. 1114
Milch 4: Entfärbung nach 40 Min.	Entfärbung nach 20 Min.
Milch 5: Entfärbung nach 1 Std. 10 Min.	Entfürbung nach 50 Min.
Milch 6: Entfärbung nach 1 Std. 20 Min.	
Milch 7: Entfarbung nach 20 Min.	Entiarbung nach 1 Sul.
	Entfärbung nach 1 Std.
Milch S: Entfärbung nach 30 Min.	Entfarbung nach 10 Min. Entfarbung nach 12 Min. Entfarbung nach 12 Min. Entfarbung nach 25 Min.

5. VI.	, प्रयोग इन्ह्राह्म
a) bei 37° im Brutschrank.	b) Flaschchen; Wasser- temperatur 40°.
Mileh 1: Entfärbung nach 55 Min.	Entfärbung nach 30 Min.
Mileh 2: Entfärbung nach 55 Min:	Entfarbung nach 40 Min.
Milch 3: Entfärbung nach 30 Min.	Entfärbung nach 10 Min.
Milch 4: Entfärbung nach 25 Min.	Entfarbung nach 12 Min.
Milch 5: Entfärbung nach 25 Min.	Entfärbung nach 10 Mingall
Mileh 6: Entfarbung nach 1 Std. 20 Min.	Entfärbung nach 50 Mingapill
Mileh 7: Entfärbung nach 55 Min.	Entfarbung nach 25 Min
Milch 8: Entfärbung nach 28 Min,	Entfarbung nach 15 Ming, 168
Milch 9: Entfärbung nach 17 Min.	Entfarbung nach 7 Min skulle.
Milch 10: Entfarbung nach 40 Min.	Entfarbung nach 10 Mingath
Milch 11: Entfärbung nach 11, Std.	Entfärbung nach 35 Min
Milch 12: Entfärbung nach 1 Std.	Entfärbung nach 25 Min.

## X. Zusammenfassung.

Wir können zum Schlufs die Ergebnisse unserer Versuche in folgenden Sätzen zusammenfassen:

- Frisch gemolkene, in reinlicher Weise gewonnene Milch hat eine Reduktionszeit von 10, 12 oder noch mehr Stunden.
- Milch, welche zu kalter Jahreszeit in der Frühe vom Milchbauern ins Haus gestellt wurde, zeigte eine Reduktionszeit von 6<sup>1</sup>/<sub>0</sub>—9 Stunden.
- Milch, welche zu kalter Jahreszeit im Laufe des Vormittags vom Greisler geholt wurde, reduzierte nach 5-6 Stunden; bei warmer Witterung schon nach 1-2%, Stunden.
- Nachmittags vom Greisler geholte Milch reduzierte in der kalten Jahreszeit nach <sup>3</sup>/<sub>4</sub>—3 Uhr in der warmen Jahreszeit nach <sup>20</sup> Minuten bis 1 Stunde
- Milch, welche bei höherer Temperatur aufbewahrt wurde, zeigte eine raschere Zunahme ihrer Reduktionsgeschwindigkeit, als gekühlte Milch
- Geronnene Milch reduziert schon nach wenigen Minuten; beim längeren Stehen nimmt jedoch deren Reduktionsgeschwindigkeit allmählich wieder ab.
- Am Ende der Inkubationsperiode beträgt die Reduktionszeit ungefähr 1 Stunde.
- Zusatzgeringer Mengensauergewordener Milch zu frischer hat eine bedeutende Abkürzung der Reduktionszeit zur Folge.
- 9. Zusatz geringer Mengen von Kuhkot oder Stallmist zu reinlich gemolkener Milch vermehrt ebenfalls die Reduktionsgeschwindigkeit. Denselben Effekt hat Passage der Milch durch mehrere Milcheimer.

- 10. Zusatz von Natriumbikarbonat oder Karbonat zu saurer Milch, derart daß neutrale oder schwach alkalische Reaktion entsteht, ist ohne Einfluß auf die Reduktionsgeschwindigkeit, oder vermehrt dieselbe sogar etwas.
- 11. Sodazusatz zu keimarmer Milch kann eine Hemmung der Reduktionsvorgänge bedingen, bzw. die Reduktionszeit beträchtlich erhöhen. Ist jedoch durch Säureproduktion die Reaktion solcher Milch neutral geworden, so geht auch die Reduktion ungehindert vor sich.
- 12. Die Reduktionsprobe gibt somit auch bei mit Soda versetzter Milch zuverlässige Resultate, wenn darauf geachtet wird, daß dieselbe nur dann angestellt werden darf, wenn es sich um Milch von saurer oder neutraler (amphoterer), nicht aber von alkalischer Reaktion handelt.
- Zusatz von Antisepticis wie Borsäure, Salizylsäure, Formaldehyd hemmt oder vernichtet die Reduktionskraft der Milch.
- 14. Milch, welche durch 15-30 Min. auf 100° erhitzt wurde, zeigt nur sehrgeringe Reduktionsgeschwindigkeit, welche jedoch bei längerer Aufbewahrung, besonders bei höherer Temperatur (37° und 32°) allmählich wieder ganz beträchtlich ansteigt.

## VIII. Über den Einflus der Milchkontrolle auf die Beschaffenheit der Milch in Graz.

Von

## mag. pharm. K. Helle.

Seit Begründung der staatlichen Untersuchungsanstalt in Graz ist großer Wert darauf gelegt worden, die Beschaffenheit der zum Verkauf gelangenden Milch zu verbessern. Häufige Revisionen der Milch mit Anzeige und Bestrafung der Lieferanten gefälschter Milch haben sehr erfreuliche Resultate ergeben, auf welche ich hier nur deshalb eingehe, weil ich zeigen möchte, was durch eine häufige Kontrolle erreicht werden kann. Es wurden in den Jahren 1898, 1901, 1903, 1905 in den kleineren Geschäften (Greislereien) eine größere Zahl Proben angekauft, bzw. amtlich entnommen und untersucht.

Dabei ergaben sich folgende Zahlen:

	% Fett:		
	Mittel	Minimum	Maximum
1898	2,6	1,0	3,5
1901	2,9	1,2	4,1
1903	3,7	2,3	5,4
1905	3,54	2,8	4,5

Ferner wurden in größerer Zahl Proben vor der Stadt entnommen und untersucht, dies freilich erst in den Jahren 1903 und 1905; der Fettgehalt war:

	Mittel	Minimum	Maximum
1903	4,2	2,3	6,6
1905	4,0	2,7	6,9.

Dieser Erfolg ist selbst für Landwirte ganz überraschend gewesen, und ich glaube, daß auch anderswo durch eine systematische Kontrolle, deren Ergebnisse in zweifelhaften Fällen durch Entnahme von Stallproben zu sichern ist, viel erreicht werden könnte. Auch der Reinheitsgrad der Milch und die Beschaffenheit der Transportgefäße sind durch die Kontrolle erheblich verbessert worden, was jedoch zahlenmäßig nicht feststellbar ist.

Freilich ist hiermit noch lange nicht erreicht, daß die Milch im allgemeinen die Beschaffenheit hat, welche man an eine sog. Kindermilch stellt. Eine spezielle, unter Zuziehung eines Amtsarztes und eines Amtstierarztes angestellte Enquete hat übrigens auch gezeigt, dass die hier als Kindermilch verkaufte Milch durchaus nicht allen berechtigten Anforderungen entspricht. Es ist jedoch wichtig, dass auf die Vorzüge einer sorgfältig durchgeführten Kontrolle hingewiesen wird. Die an vielen Orten durchgeführten Versuche zur Beschaffung von Säuglingsmilch haben bisher einen bedeutenden Erfolg an den meisten Orten deshalb nicht gehabt, weil die Zahl der Kinder, welche die mehr oder minder einwandfreie Milch erhalten, im Verhältnis zur Zahl der vorhandenen armen Säuglinge eine recht geringe ist. Um nicht mißverstanden zu werden, möchte ich hervorheben, daß selbstverständlich nichts dagegen einzuwenden ist, wenn man bestrebt ist, durch besondere Anstalten gute Kindermilch zu verteilen; ich möchte nur, dass man sich auch darüber klar wird. ob bzw. inwieweit die geschaffenen Anstalten das vorhandene Bedürfnis decken. Man wird dann an den meisten Orten zu dem Ergebnis kommen, daß es notwendig ist, durch eine scharfe Kontrolle der Milch, welche sich nicht allein auf die vorgenommenen Fälschungen, sondern auch auf den Transport, die Beschaffenheit der Transportgefäße usw. zu erstrecken hat, die Milchverhältnisse im allgemeinen zu bessern, um auch auf diese Weise die Möglichkeit der Erkrankung der Säuglinge einzuschränken.

Prof. Prausnitz hat hierim vergangenen Sommer auch den Versuch gemacht, die Kinderärzte an der Kontrolle der Milch insoweit zu beteiligen, als er sie aufforderte, der Anstalt Mitteilung zu machen, wenn ihnen etwa vorhandene Mißstände einer Milchwirtschaft bekannt würden oder aber solche aus der Beobachtung der behandelten Kinder möglich erschienen, damit durch eine Kontrolle der Milch bzw. der Milchwirtschaft Klarheit geschaffen und nachweisbare Mißstände abgestellt werden köunten. Diese Anregung zur gemeinschaftlichen Tätigkeit des Kinderarztes und der zur Beaufsichtigung des Lebensmittelverkehrs bestimmten Untersuchungs-Anstalt ist von den Kinderärzten sehr freundlich begrüßt worden.

Untersuchungen über die Erwärmung poröser Objekte durch gesättigte Wasserdämpfe bei künstlich erniedrigter Siedetemperatur.

Von

## Max Rubner.

## I. Allgemeine Erörterung über Dampfdesinfektion.

Allzulange hat man auf dem Gebiete der Desinfektion sich nur mit technischen Feststellungen der Abtötung irgendeines Bakterien - Testobjektes beschäftigt. Bald war es ein physikalischer Eingriff, die Wärme, bald ein chemischer, eine Giftlösung, den man anwandte. So wuchs sich die Desinfektionslehre einerseits zu einem Konglomerat von Einzelangaben über die Wirksamkeit einer uferlosen Maße chemischer Präparate aus, anderseits zu endlosen Ausführungsanweisungen des Dampfdesinfektionsverfahrens oder Apparatebeschreibungen. Wie die Literatur der Dampfdesinfektion der letzten Jahre zeigt, hat die Technik die wissenschaftliche Bearbeitung zurückgedrängt. Um physikalische, chemische, selbst biologische Gründe des Geschehens hat man sich wenig bemüht. Der Fülle der Vorschläge von Vorschriften und apparativen Einrichtungen gegenüber fehlte die Zusammenfassung der gesetzmäßigen Erscheinungen, die Scheidung zwischen nebensächlichem Beiwerk und grundlegenden Bedingungen. Auch heutzutage finden sich in der Literatur immer wieder Beispiele für solche rein empirische Erprobungen unter absolut variablen Versuchsbedingungen.

Archiv für Hygiene. Bd. LV1.

Für die Dampfdesinfektion habe ich vor mehreren Jahren<sup>1</sup>) versucht, die zur Begründung einer Theorie notwendigen Unterlagen zu schaffen. Dabei galt es vor allem, die technischen Versuchsbedingungen in ihre einzelne Variablen zu scheiden. Man hat nicht nur die Dampfarten zu trennen, sondern auch die Prozesse der Tötung der Bakterien und der Erwärmung der Objekte in ihren Ursachen auseinanderzuhalten.

Ich habe dabei auf die Erkenntnis der verschiedenen Arten gesättigter und ungesättigter Dämpfe und ihre chemische Einwirkung auf die Mikroben Gewicht gelegt, ferner besonders in Betracht gezogen den Vorzug der Durchwärmung poröser Objekte durch den Dampf, die Nebenwirkungen des unreinen. lufthaltigen Dampfes, die Ausdehnungsfähigkeit der Dampfdesinfektionsmethode und die natürlichen Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit. Eine Reihe von Methoden und Apparaten zur Prüfung des Dampfdesinfektionsverfahrens habe ich weiter angefügt. 2)

Die Objekte, die desinfiziert werden sollen, sind weder immer porös, noch sind deren Poren genügend durchgängig oder für den Dampfstrom zu erreichen. Die Objekte können feucht, von Wasser durchtränkt, halb fest, auch fest sein. Für diese Fälle muß man das Eindringen der Wärme genau kennen, bisher lagen aber keine Unterlagen hierüber vor.

Vor kurzem habe ich in dieser Zeitschrift<sup>3</sup>) auch diese Frage der Wärmeverbreitung näher behandelt. Ich habe gezeigt, welche große Schwierigkeiten bei der rechnerischen Behandlung solcher Akte der Wärmeausbreitung vorliegen, weil nicht nur physikalische, sondern auch physiologische Zustände, die sich im Verlauf der Erwärmung ausbilden, in Frage kommen. Speziell bei den Organen tritt bei hohen Temperaturen durch die Gerinnung und Kontraktion ein für den Temperaturausgleich höchst wichtiges Moment hinzu. Die Ungleichheiten im Leitungsver-

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, 1898, Nr. 15.

<sup>2)</sup> Da die erste Veröffentlichung zum Teil in der Form einer vorläufigen Mitteilung gehalten war, will ich hier noch einige Ergänzungen wichtiger Fragen der Desinfektionslehre durch Experimente belegen.

<sup>3)</sup> Archiv f. Hygiene, Bd. LV, S. 225.

mögen und hinsichtlich der spezifischen Wärme sind außerordentlich groß und beeinflussen den Wärmegang entsprechend.

In festen und halbfesten oder porösen Körpern mit Behinderung des Dampfeinstroms kann die Wärme im Innern bald »feucht«, bald »trocken« sein, wodurch ungleiche Wirkungen auf die Mikroorganismen sich geltend machen müssen.

Ohne eine wissenschaftliche Erklärung der Vorgänge bleibt die Frage der Desinfektion eine einfache Technik. Wir sind jetzt in die Lage gekommen, die Erscheinungen bei der Desinfektion in naturwissenschaftlicher Weise darzulegen. Erfreulicherweise hat man in den letzten Jahren angefangen, nach meinem Vorgang der Desinfektionstheorie mehr Interesse zuzuwenden, eine durchaus lohnende Aufgabe.

Die Dampfdesinfektion ist ein Arbeitsfeld, das mit den bisherigen Untersuchungen in seiner Ausdehnungsfähigkeit noch keineswegs erledigt oder abgebaut ist. Aus Gründen, die hier beiseite gelassen werden können, hat man sich immer nur an bestimmte Temperaturgrade, bestimmte Dampfarten gehalten und ist über diese Grenzen nie hinausgegangen.

Ich beabsichtige zu zeigen, wie eine Reihe von wichtigen Eigentümlichkeiten des Dampfes weiterer Benutzung offen stehen. Ich werde am besten von den festen Tatsachen ausgehen, die sich aus meinen Versuchen über die Dampfdesinfektion ergeben haben, möchte mich aber dabei nicht an die Darstellung meiner früheren Mitteilungen halten, sondern über diese hinaus in nachstehendem meine Anschauungen niederlegen.

In erster Linie sind zwei Fragen ganz getrennt zu behandeln:

- die Tötungsursachen und Bedingungen freier Bakterien-Testobiekte, wie z. B. der Kulturen.
- Die Wärmeverhältnisse und Wärmeverteilung in Objekten, welche desinfiziert werden sollen.

Mit Bezug auf den zweiten Punkt ist festzuhalten, dafs nur poröse Objekte, welche vom Dampf durchdrungen werden können, besonders geeignet sind, dieser Desinfektionsweise unterworfen zu werden. Als beste Bedingungen der Abtötung von Mikroorganismen wurde erkannt die Anwesenheit eines annähernd gesättigten Dampfes. Geringe Grade unzureichender Sättigung schaden nicht und mäßig überhitzte Dämpfe haben keine Nachteile.¹) Für die übliche Sporen und Schnelldesinfektion müssen Temperaturen über 90 ° gegeben sein. Die Unreinheit des Dampfes an Luft darf 10 °/0 Luftbeimengung nicht sehr überschreiten.

Das Eindringen des Dampfes in poröse Objekte hängt von mehreren Umständen ab. Der erste Akt wird verursacht durch das ungleiche spezifische Gewicht zwischen der in den Poren eingeschlossenen Luft und dem Dampf der Umgebung.<sup>2</sup>) Dieser Satz ist streng genommen nicht bewiesen, aber kaum zu beanstanden, da einerseits die zu Gebote stehenden > Triebkräfte« in der Tat ausreichend sind, und auserdem der Luftaustausch, genau so wie die Theorie es erfordert, in ihrer Richtung verläuft, d. h. die Luft tritt im allgemeinen unten an den Objekten aus, der Dampf oben ein, was ich an der Schwärzung von mit Wolle gefüllten Kupferkugeln gesehen hatte.

Dieses Austreiben der Luft darf man nicht als einen jäh verlaufenden Akt sich denken. Die Unreinheit des Dampfes zu Anfang des Einströmens desselben in den Desinfektionsraum bedingt an sich nicht die maximalsten Unterschiede der Triebkraft, und weiter kann der Dampf nicht mit einem Schlage die ganzen Objekte durchsetzen, weil er ja kondensiert wird, und anfänglich immer wie der Luft absetzt,

<sup>1)</sup> Die Vorstellung, dass die Dampffeuchtigkeit die Aufgabe habe, zum Zwecke ausreichender Desinfektion die Objekte nass zu machen, welche ich als eine irrige nachgewiesen habe, scheint von mancher Seite noch fest-gehalten zu werden. So erklärt Esmarch (Hygien. Rundschau, 1902, Nr. 19) die starke Wirkung von mit Wasserdampf verdünnten Formaldehyddämpfen so, dass der Wasserdampf eine vorbereitende ausweichende Tätigkeit ausübtz. Zu der üblichen Bedeutung des Wortes Aufweichene gehört eine Durchnässung mit tropfbar flüssigem Wasser. Diese ist aber weder bei der eigentlichen Dampfdesinfektion noch auch bei der Formaldehyd-Dampfwirkung notwendig, wie sich jederzeit beweisen läßt.

<sup>2)</sup> Der natürlich mehr oder minder unrein sein kann.

solange die Unreinheit des Dampfes durch Auswaschen der Luft aus dem Desinfektionsraum noch nicht beseitigt ist. Die abgeschiedene Luft wird wärmer und durchsetzt das Objekt in einzelnen Teilen langsam, zum Anwärmen beitragend, der Dampf dringt weiter nach und in die Porenräume vor, nach Maßgabe der Kondensation zu Wasser. Hat ein Teil oder das ganze Objekt die Dampftemperatur angenommen, so hört die Kondensation auf. Man denke dabei, daß der Dampf in die Poren wie in Röhren einströmt, und indem er die Wände dieser Kapillaren anheizt, sich abkühlt, streckenweise haben wir also ein allmähliches Absinken der Temperatur, bis mit der vollkommenen Kondensation die letzte Spur von Dampf aufgezehrt sein kann. Der nächste Dampfstrom dringt dann weiter in die Tiefe, wenn die in dieser Röhre stehende Luft pausgewichen ist.

In der hygienischen Literatur, auch der neueren Zeit, findet man immer wieder Angaben, die mit einfachen physikalischen Tatsachen in Konflikt geraten. Dahin gehören die Anschauungen über die durch Kondensation erreichten Temperaturen. In einem mit reinem Dampf gefüllten Raum schlägt sich der erstere nicht wahllos nieder, aus freiwilliger Ausscheidung, wie man nach der Darstellung mancher Autoren meinen mufs, sondern nur wenn Wärme auf einen Gegenstand übertragen werden kann, d. h. wenn dieser kühler ist als der Dampf und so dessen Kondensation einleitet. Kondensiertes Wasser repräsentiert in seinem Verdampfungswert genau den Wasserwert des angewärmten Objekts. Auf diesem Grundsatz basiert z. B. das Bunsensche Dampfkalorimeter.

In voller Reine wird praktisch diese Kondensation kaum eintreten, weil hierzu notwendig wäre eine Substanz, welche gar kein Anziehungsvermögen für Feuchtigkeit an sich, d. h. keine hygroskopischen Eigenschaften besitzt. Es gibt solche Substanzen; unter dem Material, das man gemeinhin im Dampf desinfiziert, spielen solche Körper aber nur selten, wohl aber die hygroskopischen eine Rolle. Bei diesen erfolgt im Dampfraum zunächst, ehe Kondensation eintritt, die hygroskopische Sättigung

und erst nach dieser die Ablagerung von (thermisch) kondensiertem Wasser. Bei einigermaßen reichlicher Bindung von hygroskopischem Wasser beobachtet man eine Erhöhung der Temperatur der Objekte über die Dampftemperatur und das Entstehen von überhitztem Dampf, wenigstens ist es diese Erscheinung, die dem Experimentierenden zuerst auffällt. Die hygroskopische Wasserbindung ist aber an einer ganzen Reihe eigenartiger Vorkommnisse bei der Dampfdesinfektion beteiligt. Trotzdem scheint man diese grundlegenden Tatsachen weder allgemein zu würdigen, noch überhaupt zu kennen.

So beschreibt Orme Masson (Proceed. of the Royal Society 1904, Vol. 74, pag. 230) die von mir schon lange publizierten Erscheinungen, aber nicht entfernt in dem Umfange wie es von mir geschehen ist, ohne mit einem Worte des Umstandes zu gedenken, daß seine Beobachtungen nur ein Teil einer vor Jahren veröffentlichten Untersuchung sind.

Auch in der hygienischen Literatur, betreffend die Dampfdesinfektion, vermisse ich die Anwendung der von mir gewonnenen Erfahrungen. Ich halte es daher für geboten, etwas eingehender auf die einschlägige Materie zurückzukommen.

Wir wollen die eine Art dieser Kondensation die thermische nennen, wenn diese nur durch die Temperaturunterschiede zwischen Dampf und Objekt erregt ist, die andere die hygroskopische Kondensation.

Zunächst wäre da des Umstandes zu gedenken, das hygroskopische Körper, obschon sie »trocken« bleiben, weit mehr Wasser im Damps aufnehmen als andere Objekte.

Wenn man hygroskopische Stoffe vor dem Einbringen in den Dampfdesinfektionsapparat sorgfältig sich sättigen läfst (was sehr zeitraubend und schwierig ist), und man berechnet, wie viele Kalorien notwendig sind, um die Objekte auf Dampftemperatur zu bringen (A), so läfst sich damit — wenn alle Bedingungen bekannt sind, wie in den von mir ausgeführten Experimenten — durch Bestimmung der wirklichen Menge des aufgenommenen Wassers in Wolle z. B. und durch dessen Kondensationswärme,

die tatsächliche Menge der in Aktion getretenen Wärmeeinheiten berechnen (B). So fand ich:

theoretisch abgeleiteter Wärmeverbrauch (A). . .  $2294\,\mathrm{g-Kal.}$ , aus dem abgelagerten Wasser berechneter Wärme-

Wir stellen jetzt einen äbnlichen Versuch an, trocknen aber vorher die Wolle; wie früher können wir dann berechnen, wie viel Wärme zur einfachen Steigerung auf die Dampftemperatur nötig war. Für die tatsächlich abgelagerte Wassermenge hängt aber der Wert nicht nur von der Erwärmung, sondern von dem Anziehen hygroskopischen Wassers, ganz unabhängig von den anderen Vorgängen der Erwärmung ab. Ich habe gefunden:

aus dem abgelagerten Wasser berechnet (B) 4027 g-Kal., aus der Erwärmung des Materials (A) . . 2857 » also mehr 1170 g-Kal.

Der trockene Körper ist also im Dampfstrom viel mehr mit Wasser durchtränkt worden als der vorher schon mit Wasserdampf in Berührung gewesene.

Es war mehr Wärme entstanden, als durch die Temperatursteigung an sich nachzuweisen war, obsehon diese weit über Dampftemperatur stand. Die Erklärung ist höchst einfach; die sich wegen Auziehung von hygroskopischem Wasser überwärmenden Objekte verlieren die Wärme wieder, weil sie sich in dem Dampfe von 100° abkühlen; wir finden nachträglich bei der Analyse der Wolle aber alles Wasser, das während der ganzen Erwärmungsperiode im Desinfektionsapparat aufgenommen worden ist, wieder.

Die Steigung der Temperatur des hygroskopischen Körpers über Dampftemperatur ist eine leicht zu konstatierende Tatsache. Die Trockenheit muß einen gewissen Grad erreicht haben, wenn man ihre Wirkung sehen will und weiters gehört dazu, daß man den Desinfektionsapparat sachgemäß gebraucht. Ist der Kessenicht genügend geheizt, die Dampfmenge klein, der Desinfektionsraum sehr groß, so wird die Anwärmungsperiode und die Füllungszeit des Apparates so lange währen, daß hygroskopische Stoffe sich allmählich mit Wasser gesättigt haben.

Die Experimente über die hygroskopische Wirkung im dampferfüllten Raum sind, wenn man nichts weiter beobachten will als die Temperaturüberschüsse, in wenigen Minuten vorzuführende Vorlesungsexperimente.

Im übrigen möchte ich darauf verweisen, daß eine ganze Reihe von Nachprüfungen das, was ich angab, längst bestätigt haben. (S. Braatz, München, Med. Wochenschr. 1901 S. 55 u. a.)

Wenu man genügend schnell abliest und die Versuchsbedingungen bei der Desinfektion beherrscht (was leider nur zu häufig unterlassen wird), so zeigt sich zwischen einer mäßig getrockneten und mit Wasserdampf gesättigten Wolle im Dampf von 100° folgendes, um nur ein Beispiel von zahlreichen herauszugreifen.

Zeit	Temperatur des Desinfektions- raumes	Siebkugel mit Wolle		
in Sekunden		mit Feuchtigkeit gesättigt	etwas vorgetrockne	
0	22	22	271)	
60	66	-	27	
120	77	22	27	
162	86	_	30	
252	96		35	
266	97	_	40	
278	97	March 19	45	
280	98	30	50	
290	98	35	60	
300	98	43	70	
307	98	54	80	
328	98	74(!)	90	
358	98	90	96	
435	99	98	99	
455	100	98	100	
490	100	99	102	
600	100	99	104	

<sup>1)</sup> Vom Trocknen noch etwas warm.

In nebenstehender Kurve habe ich dieses Experiment und ein zweites mit gründlich vorgetrockneter Wolle zusammengestellt, wobei dann die Endtemperatur von 115° (am Ende der 17. Minute) erreicht wurde.

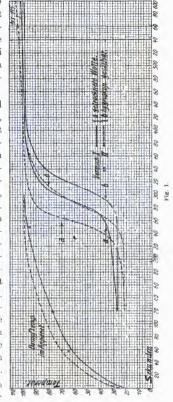
Die beiden Kurven sind gegeneinander verschoben, weil die Geschwindigkeit der Erwärmung des Desinfektionsraums, der von der nicht so leicht abzumessenden Dampfentwickelung im Kessel bedingt ist, eine etwas ungleiche war.

Diese Versuche habe ich an einem kleinen Versuchsdesinfektionsapparat<sup>1</sup>) ausgeführt, der besonders ausgestattet ist, um alle Versuchsbedingungen tunlichst gleich erhalten zu können.

Die Vorlesungsexperimente mache ich noch heute mit dem gewöhnlichen Kochschen Dampftopf, wie ich es früher beschrieben habe. (Hyg. Rundsch. l. c.).

Kleinere Ungleichheiten der Versuche sind an der

Kurve abgeglichen. Die erste Periode dient dem Eindringen des Dampfes und dem Austreten der größeren Luftmassen. In



<sup>1) 70</sup> l Luftraum.

der 140 -180 Sek trennen sich die Kurven von Trockens und » Feucht« und zwar kaum wesentlich unterschieden bei völliger und nicht völliger Trocknung. Erst in der 250.-270, Sek. beginnt der rasche Anstieg bei der mit Wasserdampf gesättigten Wolle. Die Kurve des raschen Anstiegs ist in der Form bei beiden Versuchsobjekten fast gleich. Sie stellt in diesem Teil die Zeit der raschen Kondensation des Wasserdampfes dar, mit welchem Vorgang die Anwärmung bei dem hygroskopisch gesättigten Material beendet ist. Bei dem trockenen Material kam es zunächst zu keinem Ruhepunkt, sondern zu einem allmählichen Fortschreiten der Temperatur über den Wärmegrad des Dampfes. In dem Momente des raschen Anstieges erreicht der Dampf die innerste Schicht und das Thermometer, nachdem schon vorher eine mäßige Erwärmung anliegender Teile stattgefunden hat. Wir kommen gerade auf diesen Punkt später noch eingehender zu sprechen,

Die hygroskopische Anziehung ist insofern der wichtigere Akt gegenüber der thermischen Kondensation, als sie die frühzeitigere Erwärmung bedingt. Die hygroskopische Anziehung beschleunigt allemal, wo sie in Aktion treten kann, die Erwärmung.

Für die thermische Kondensation kommt nur in Betracht die Abkühlung des Dampfes bzw. die Temperatur eines Objekts. Für die hygroskopische Kondensation ist eine Abkühlung auf die Kondensationstemperatur nicht erforderlich, weil der hygroskopische Körper direkt den Dampf von beliebiger Temperatur aufnimmt. Die Geschwindigkeit der Erwärmung hygroskopischer Körper erklärt sich aus der breiteren Basis für die Kondensation gegenüber der thermischen.

Objekte von völlig gleichem Wassergehalt beginnen bei der Dampfdesinfektion zur gleichen Zeit den Wärmeanstieg.

Für den differenten Einflufs, welchen mit Wasserdampf gesättigtes und hygroskopisches Material hinsichtlich der Erwärmung hat, kann auch noch folgendes Experiment angeführt werden. Läfst man nach starkem Evakuieren mit vollem Atmosphärendruck die Luft in den Desinfektionsraum pressen, so steigt die Temperatur des Dampfluftgemisches, des wasserdampfgesättigten und des hygroskopischen Objektes. Die Zunahme ist in allen dreien ungleich. Am wärmsten wird das wasserdampfgesättigte Objekt, wenig niedriger steht das Dampfluftgemisch, wesentlich niedriger die Temperatur des hygroskopischen Körpers. Es kommen Fragen der Kondensation in Betracht; im überwarmen hygroskopischen Körper ist dazu weniger Gelegenheit. (S. später S. 240.)

Sehr beachtenswert ist auch das Experiment, welches C. Cobbett angestellt hat; er brachte hygroskopische Stoffe, die mit Wasserdampf gesättigt waren, in überhitzten Dampf, wobei sie den entgegengesetzten Wärmegang einschlagen und sich abkühlen. 1)

Die hygroskopischen Eigenschaften erklären uns also eine ganze Reihe eigentümlicher Erscheinungen der Erwärmung und Vorkommnisse, die eben auch für den praktischen Effekt einer Desinfektion von großer Bedeutung sind.

Die Frage, ob nicht neben der hygroskopischen Eigenschaft auch andere Einflüsse, namentlich bei der Überwärmung in Betracht kommen, ist von Eijkmann in einer sehr dankenswerten Darstellung angeschnitten und durch einen seiner Schüler, Schut, weiter ausgeführt worden.

Beim Kochen unter erniedrigtem Drucke soll der Dampf schneller abtötend wirken als die Flüssigkeit. Nach Eijkmann erfordert die Abtötung von Pyocyaneus bei 34° im Dampf 4,5 Minuten, im Wasser über 7 Stunden, bei Milzbrandsporen sind bei 80° 5 Minuten im Dampf, aber 1 Stunde im Wasser notwendig. Alles Feststellungen, die ich als richtig ansehe. Die Argumente, welche zur Begründung angeführt werden, entsprechen nicht ganz den physikalischen Tatsachen. 2) Wenn die These aufgestellt wird, die Temperatur des Dampfes über Salz-

<sup>1)</sup> Proceed. of the Cambridge Phil. Soc. Vol. X, Pf. VI, p. 370.

S. Baumgartners Jahresbericht 1903, S. 1043! Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXIII, Nr. 7, S. 567.

lösungen sei niedriger als deren Temperatur, so ist diese von Rudley zuerst aufgestellte Behauptung schon von Regnault durch Versuchsfehler erklärt und von Magnus gezeigt worden, daß, je vorsichtiger die Experimente waren, um so mehr die Wärme des Dampfes mit der Flüssigkeit übereingeht. Ich lege darauf weiter kein Gewicht, denn die weiteren Annahmen von Eijkmann sind zutreffend.

Richtig ist es, daß man durch Einleiten von Dampf in eine Salzlösung diese über die Siedetemperatur des Wassers erhöhen kann

Über die hochgradige Erhitzung von Salzen im Dampfstrom habe ich selbst zuerst Mitteilung gemacht. Im Dampf von 100° stieg die Wärme in Chlorkalzium auf 178°, also um 78° höher als die Umgebung. 1) Aber dies geschieht eben doch nur unter exzeptionellen Fällen, nämlich bei schnellster Anziehung von Wasserdampf und bei Anwendung von granuliertem Material.

Die Bedeutung von Salzen für die Erwärmung ist mir also nicht unbekanut gewesen, vielmehr habe ich sie durch ein überraschendes Experiment selbst zuerst belegt.

Den Salzen, welche in den zu desiufizierenden Stoffen euthalten sind, kommen stark hygroskopische Eigenschaften über. haupt nur selten zu. Wäsche und Kleidung enthalten stets nur wenig Salze, da letztere, abgesehen von der Unreinlichkeit, der sie ihre Quelle verdanken, wegen anderer nachteiliger Eigenschaften der Kleidung und Bettwäsche etc. ausgewaschen werden müssen. Aber selbst wenn ein Stoff bis zu 5 % Salze einschließen würde, ergibt die Rechnung, daß die dabei zu erwartende Überwärmung nicht groß sein kann im Verhältnis zur Wärmeentwicklung durch hygroskopische Eigenschaften. 2)

<sup>1)</sup> Hygien, Rundschau, 1898, a. a. O.

<sup>2)</sup> Nehmen wir Wolle rein und eine solche, der man  $5\,^{\circ}/_{\circ}$  Kochsalz beigemischt hat, dann braucht die reine Wolle für  $100\,\mathrm{g}$   $100\,\times\,0.56\,\times\,100$  =  $5600\,\mathrm{g}$ -Kal., um von  $0\,^{\circ}$  auf  $100\,^{\circ}$  erwärmt zu werden,  $0.56\,^{\circ}$  ist die spez. Wärme der Wolle.

Hatten wir 95 Teile Wolle, so brauchten diese  $95 \times 0.56 \times 100 = 5320$  g-Kal., 5 Teile Kochsalz könnten sich durch Dampfkondensation auf eine 35 proz. Lösung bringen, dann würden 14 Teile Lösung entstehen.

In der quantitativen Schätzung und Bewertung steht die Überwärmung durch die Temperaturzunahme in Salzlösungen beim Desinfektionsakt hinter der Ausnutzung der hygroskopischen Auziehung völlig zurück.

Die in einem Desinfektionsapparat befindlichen Stoffe stimmen auch aus anderen Gründen mit dem Dampfe auch bei längerer Einwirkung nicht immer in der Temperatur überein.

Unter Dampftemperatur bleiben außerhalb der üblichen Desinfektionszeit die Objekte bei Unmöglichkeit des Eindringens von Dampf ins Innere der Gegenstände, ferner bei geringer Permeabilität und Enge der Poren, endlich bei Absackungen von Luft, welch letztere das Eindringen von Dampf hindert, wenn ihr das Entweichen nach abwärts durch Widerstände verwehrt wird.

Die Anwesenheit von Luft hemmt auch die Geschwindigkeit der hygroskopischen Wasseraufnahme, also die Erwärmungsgeschwindigkeit vieler Substanzen, welche der Desinfektion unterworfen werden.

Die Geschwindigkeit der Aufnahme hygroskopischen Wassers ist in lufthaltigen Räumen innerhalb weiter Grenzen von der Temperatur unabhängig, wie Versuche bei 20—75° mir ergeben haben.

Diese mag sich erwärmen auf  $108.8^{\circ}$ , sie hat 0,77 spez. Wärme. In der Kochsalzlösung sitzt demnach aufgespeichert:

was einer Temperaturerhöhung auf  $113,9^{\circ}$  entspricht  $= +13,9^{\circ}$  mehr als auf den Siedepunkt (wenn gar kein Wärmeverlust eintreten kann).

100 g Wolle nehmen auf: 28 Teile hygroskopischen Wassers nach meinen eigenen Bestimmungen:

ist der Wasserwert der feuchten Substanz = 84,0,

28 Teile Wasser liefern bei der Kondensation als hygroskopisches Wasser mindestens  $16\,800$ g-Kal., dazu die unmittelbare Erwärmung der trockenen Substanz  $-5\,600$ 

= 22 400 g·Kal., was einer Erwärmung auf 274 ° gleichkäme, eine Zahl, die natürlich nichts weiter sein soll, als ein Vergleich zu obiger Salzwirkung, die wir auf 14 ° geschätzt haben, also fast nur zu ¹/30 der hygroskopischen Wirkung. Anders, sobald man einen Raum zu evakuieren beginnt; bei gewöhnlicher Temperatur stieg die hygroskopische Wasseranziehung bei einem negativen Druck von 600 mm Hg auf über das 2½ fache.

Auch für den Ablauf der Kondensation selbst mögen ähnliche Verhältnisse Platz greifen, indem dieselbe leichter verläuft, wenn eine Entlüftung schon eingetreten ist.

Die Anwesenheit des Dampfes macht sich bei der hygroskopischen Bindung des Wassers oder bei der Kondensation insofern verstärkt geltend, as nach der Kondensation des Dampfes die beigemengte Luft sich natürlich in den Porenräumen wieder ansammelt und bei der sich ja rasch hintereinander vollziehen den Füllung der Poren immer mehr in Betracht kommen wird, bis sie durch die eigene Schwere eine Bewegungstendenz erhält und wieder aus den Poren tritt. Ehe letzteres erreicht wird, kann natürlich der Prozefs der Erwärmung verhindert oder auch nur vermindert und in die Länge gezogen werden.

Die Aufsaugefähigkeit und Kondensation der Wasserdämpfe ist die Hauptursache der schnellen Erwärmung poröser Objekte in Dampf.

Das sind in großen Zügen die Prozesse, welche sich bei dem Desinfektionsvorgange abspielen müssen.

Wir verstehen also sehr wohl, warum die Dampfdesinfektion nicht immer gleichmäßige Erfolge erzielt; nicht die Methode an sich ist unbefriedigend, wohl aber die Ausführung oft unzweckmäßig, weil dem Dampf Aufgaben gestellt werden, die er nicht bewältigen kann.

Für die Prüfung von Apparaten im speziellen, für die Anforderung an rationelle Testobjekte würden sich aus meinen Untersuchungen eine Reihe neuer Gesichtspunkte haben finden lassen.

Die aus der theoretischen Begründung der Dampfdesinfektion ableitbaren Variationen der Desinfektionsmöglichkeiten sind mit den früher berührten Fragen nicht erschöpft.

# II. Gesättigter Wasserdampf unter 100 ° und seine Verwendung zu Desinfektionszwecken.

Die meisten Erfahrungen stehen dem Hygieniker hinsichtlich der Verwertung der üblichen bei Ortsdruck entstehenden Wasserdämpfe zu Gebote; auf ihn bezogen sich auch früher die wenigen wissenschaftlichen Tatsachen über die Desinfektionswirkung.

Aber darauf beschränkt man unzweckmäßigerweise das ganze Gebiet der Dampfdesinfektion. Es ist ein sehr erhebliches und umfangreiches Gebiet der Desinfektionslehre theoretisch gar nicht, praktisch in ganz unzulänglicher Weise bisher studiert worden; ich meine die Eigenschaften der gesättigten Wasserdämpfe von einer unter 100° liegenden Temperatur.

Diese Lücke soll durch die nachfolgenden Untersuchungen ausgefüllt werden. Wie gesagt, waren früher für die Dampfdesinfektion meist nur Dämpfe von 100° oder darüber angewandt worden. Da biologisch kein Grund einzusehen ist, warum die Mikroben gerade nur bei 100° im Dampf absterben sollten und nicht schon bei 95° und darunter, habe ich zuerst gesättigte Dämpfe unter 100° einer näheren Untersuchung unterzogen und diese Ergebnisse bereits mitgeteilt. 1)

Milzbrandsporen, welche in 1—2 Min. im gesättigten Dampf von 100° abgetötet waren, hielten sich bei 90° durch 12 Min., bei 83° des Dampfes wurde in einer vollen Stunde nicht immer die Tötung erreicht.

In der Mehrzahl der Fälle waren die Sporen abgetötet worden, aber eine sichere gleichmäßige Tötungskraft war mit einer Stunde Einwirkung nicht erreicht. Bei noch tieferen Temperaturen war nach vielen Stunden noch kein Effekt vorhanden, weshalb eine Feststellung der minimalsten Tötungszeit sich erübrigte.

Die Versuche sind so ausgeführt worden, daß durch Erniedrigung des Luftdruckes durch eine Wasserstrahlpumpe das Wasser in meinem Versuchskessel zum Sieden gebracht worden war. Die Druckerniedrigung konnte auf 50—60 mm Druck im

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, 1898, Nr. 15.

Vakuummeter gebracht werden, durch den Dampfstrom wurde jeweilig, wie bei allen derartigen Versuchen, der Apparat erst gründlich mit Dampf ausgewaschen, ehe eine Prüfung der Testobjekte vorgenommen worden war.

In rasch sich minderndem Grade fällt mit Sinken der Temperatur die Wirksamkeit des Dampfes ab, wie die graphische Darstellung zeigt.



Für das Intervall 106—90° hat Ballner die Kurve der Abtötungszeiten näher verfolgt, mit ähnlichem Resultat, wie sie meine Experimente ergeben haben. 1)

Ähnliche Angaben hat auch Schut jun. gemacht.<sup>2</sup>) Die Kurve der Abnahme der Tötungskraft steht demnach genügend fest. Die Untersuchungen von Schut jun. haben namentlich für sehr niedrige Temperaturen bis 40° herab die Experimente für Wasser wenigstens weitergeführt.

Die Tötungszeiten werden wesentlich unter 100° sehr große. Vom Standpunkt der >Schnelldesinfektion« haben solche Ergebnisse keinen Wert und keine Bedeutung. Sie sind aber von größerem wissenschaftlichen Interesse und erweitern den Gesichtskreis für andere biologische Fragen.

Unter Tötungskraft verstehe ich in folgendem die Wirkungen einer Desinfektionskombination auf ein biologisches Testobjekt.

Die Ursache der Tötung liegt in Veränderungen der bakteriellen Leibessubstanz, entweder hervorgerufen durch Wärmespaltung, oder durch vereinte Wirkung der Wärme und der Wasserdampfmoleküle. 3)

Unter der auch noch heute immer festgehaltenen, allerdings antiquierten Anschauung, dass die Wirksamkeit der Desinsektion an der Geschwindigkeit, mit der die Vernichtung von Sporen zustande kommt, gemessen werden soll, würde man also ge-

<sup>1)</sup> Sitzungsberichte d. Kais. Akad. d. Wissenschaften. Juni 1902.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. Hygiene, XLIV, S. 344.

Von den chemischen Giften und den mechanischen Zerreifsungen der Micellenstruktur bei der Dampfbildung in Lösungen sei hier abgesehen.

sättigten Dämpfen niedriger Temperatur einen geringen Wert zusprechen müssen. Anders liegt die Sache unter solchen Umständen, wo die große Geschwindigkeit allein nicht ausschlaggebend wäre, wo niedrigere Temperaturgrade aber sicherlich zur Desinfektion und Abtötung bestimmter Spezies hinreichen.

Die Wahl niedriger Dampftemperaturen kann in vielen praktischen Aufgaben durch die Art des zu desinfizierenden Objektes geradezu gefordert werden. Wenn man auch nur die Gesichtspunkte einfacher Desinfektionstechnik verfolgt, so spielt nicht überall ein geringer Zeitverlust allein die ausschlaggebende Rolle. In vielen Fällen wäre es absolut gleichgültig, ob die Vernichtung der Testobjekte in 2 oder 12 oder 20 Minuten oder selbst mehr sich vollzöge.

Auch die biologische Eigentümlichkeit vieler Krankheitserreger verlangt hohe Hitzgrade zur Abtötung überhaupt nicht (vegetative Formen ohne Sporen). Die Erörterung der Verwendungsfrage gesättigter Dämpfe unter 100° kann somit eine große Bedeutung für sich in Anspruch nehmen; wir werden später darauf zurückgreifen. (S. die nächste Abhandlung.)

Dampf von 100° hat recht aktive chemische Eigenschaften. Ich habe in früheren Arbeiten schon auf die Zersetzung organischer Substanzen hingewiesen, welche durch Überleiten von Dampf bei obengenannten Temperaturen erzielt wird, während die Erhitzung allein ohne Bedeutung ist. Die Abspaltung von CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, SH<sub>2</sub>, Merkaptan, sind Zeugen eines starken Eingriffes.

Diese angreifende Wirkung fehlt auch den Dämpfen unter 100 ° nicht, sie ist aber quantitativ gemildert und nimmt mit sinkender Temperatur ab. Die niedrigste Grenze habe ich allerdings früher nicht festgestellt. 1)

<sup>1)</sup> Entstehen die Dämpfe in Flüssigkeiten, in denen Bakterien suspendiert sind, so findet offenbar durch mechanische Verletzungen der Gewebsstruktur, die sich mikroskopisch gar nicht zu verraten braucht, eine Tötung statt; wenigstens ist dies die einfachste Erklärung für Versuche von Schut jr., die eine rasche Abtötung in siedenden gegenüber der ruhenden Flüssigkeiten gleicher Temperatur ergeben haben.

Die Brauchbarkeit einer Desinfektionsart hängt nicht nur von der Tötungskraft freiliegender Objekte allein ab. sondern von einem weiteren wichtigen Faktor, nämlich der Vollkommenheit und Schnelligkeit der Erwärmung der Objekte. Ist diese Geschwindigkeit auch sicher nicht allein ausschlaggebend, so ist sie doch um deswillen wichtig, weil sie ein Ausdruck ist für die Sicherheit und Vollkommenheit, mit der sich die Objekte durchwärmen lassen, wie für die Überwindung entgegenstehender Widerstände überhaupt. 1)

Wir haben daher die Ursachen der Dampfdurchwärmung, die oben kurz auseinandergesetzt wurden, noch eingehender zu behandeln, wenn wir die Dämpfe unter 100° in den Kreis unserer Erwägungen ziehen wollen.

Das Eindringen des Dampfes in poröse Objekte erweist sich in erster Linie als Abhängung von dem Gewichtsunterschied zwischen der in den Poren eiugeschlossenen Luft und dem umgebenden Dampf.

Man darf aber keineswegs annehmen, es seien diese Verhältnisse überall, wo Dampf angewandt wird, konstant.

Nehmen wir Wasserdämpfe, wie sie bei niedrigem Luftdruck entstehen, so nimmt deren Dichtigkeit mit sinkender Temperatur bzw. sinkendem Barometerdruck immer weiter ab, trotzdem wir es mit einem gesättigten Dampf zu tun haben.

Ich habe für meine Experimente Milzbrandsporen an Fäden getrocknet angewendet und die Proben dann in Bouillon gebracht, um die etwa nicht getöteten Keime auswachsen zu lassen.

Ich nehme hier Gelegenheit, auf eine Bemerkung von J. Schut jr. einzugehen, welcher in einer Publikation\*) meint, es sei für Desinfektionsversuche immer notwendig, quantitativ zu untersuchen, wie viele von den Keimen abgetötet worden seien. Die Annahme von Schut ist nicht allgemein zutreffend, denn die Desinfektionsaufgabe besteht nicht darin, einen mehr oder minder beträchtlichen Grad der Abschwächung der Bakterien hervorzurufen, sondern in der Tötung bis auf die letzte Zellet Desinfiziert ist eine Sache nur. wenn sie keimfrei ist. Ob der Versuch mifslungen ist, weil 10 oder 100 Keime oder 1000 überlebt haben, ist bei dieser Frage völlig belanglos; die quantitative Keimzählung wäre also hier ein unnötiger Ballast. Die Tötungskraft besteht in der Vernichtung aller vorhandenen Lebewesen.

<sup>\*)</sup> Zeitschrift f. Hygiene, Bd. XLIV, S. 341.

Bei ungespanntem oder gespanntem Dampf strömt dieser in einen geschlossenen Raum, ihn allmählich füllend und an Temperatur zunehmend. Er tauscht sich mit der in den Poren eingeschlossenen Luft, welche z. T. längere Zeit die ursprüngliche oder einer dieser naheliegende Temperatur behalten, und so einen großen Gewichtsunterschied zwischen Luft und Dampf erhalten.

Es ist aber auch, wenn der Desinfektionsapparat vorgewärmt wird, mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die in den Poren eingeschlossene Luft ebenso warm ist wie der nachfolgende Dampf, dann ist die Gewichtsdifferenz geringer.

Bei gespanntem Dampf wird der Raum, in welchem der Dampf gelassen wird, ebenso wie im vorigen Falle kühl oder vorgewärmt sein können. Wegen starker Kondensation an den Wänden würde die Vorwärmung sogar sicher nicht ausnahmsweise benutzt werden. Unter Druck läßt man die Kammer, in welche der Dampf einzuströmen hat, zunächst wohl nicht stehen, da dies besondere technische Mittel nötig machen würde.

Ganz anders bei Erniedrigung des Luftdrucks. Die Luft wird an Orten verminderten Luftdrucks verdünnter sein, oder wenn wir diesen geringen Druck künstlich herstellen, um den Siedepunkt des Wassers zu erhöhen, wird er in allen Teilen der porösen Körper gleichzeitig vorhanden sein. Wir haben es dabei stets mit verdünnter Luft, welche vom Dampf verdrängt werden muß, zu tun.

Für die gespannten Dämpfe, die man zunächst in eine Kammer ohne Spannung treten läßt, lassen sich zutreffende Angaben über die jeweiligen Gewichtsbeziehungen zwischen Luft und Dampf überhaupt nicht machen, weil hier fortwährend wechselnde Bedingungen vorliegen. Im Moment des Einstroms wird aus dem gespannten Dampf ein ungespannter, und erst allmählich wird der Druck bis auf die Höhe der Kesselspannung zunnehmen.

Wie dem auch im einzelnen sein mag, jedenfalls ist der Gewichtsunterschied der Luft in den Porenräumen und des Dampfes außerhalb, von der Diffusion abgesehen, ein Moment, welches den Akt der Dampfinfektion wesentlich beeinflußt.

Sind die Gase des Poreninhalts und der Umgebung von gleichem Gewicht, so wird ein Durchströmen nicht eingeleitet, ein Verfahren dieser Art hat keine Tiefen wirkung.

Der Luft- und Wasserdampfaustausch beruht also auf denselben Gründen, durch welche die Triebkraft für die übliche Stubenventilation gewonnen wird.

Überall, wohin der Dampf seinen Weg genommen hat, folgt die weitere Masse desselben mit größter Leichtigkeit, weil er gewissermaßen in ein durch Kondensation entstandenes Vakuum stürzt.

Man sieht, von welcher Wichtigkeit gerade der Umstand ist, daß der Dampf überhaupt und genügend schnell eindringen kann.

Um für die Berechnung der theoretisch möglichen Fälle eine Grundlage zu liefern, möchte ich in folgender Tabelle S. 21 über die bei verschiedenen Temperaturen zu beobachtende Spannkraft der Dämpfe und das Gewicht von 1 cbm Dampf Angaben machen.

Für die Luft habe ich gleichmäßig angenommen, daß sie a) vorgewärmt sei, b) daß sie im Druck dem Dampf entspreche. Als Resultat ist wichtig der Gewichtsunterschied zwischen Luft und Dampf, denn diese Größe stellt die Triebkraft für das Eindringen des Dampfes in poröse Objekte dar. Ich will diesen Wert als Penetrationskraft bezeichnen. Was die Tabelle bringt, ist die auf b bezogene Größe.

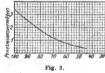
Für die unter praktischen Verhältnissen anders gewählten Bedingungen, also, wie oben gesagt, Einströmen des Dampfes in nicht vorgewärmte Räume, würden sich die Zahlen etwas anders gestalten. Am wenigsten Belang hat es, ob man für die verdünnte Luft Vorwärmung annimmt oder nicht; die Zahlen verschieben sich dadurch so wenig, dass der allgemeine Überblick, den ich geben will, darunter nicht leidet.

Die Verhältnisse bei Temperaturen über 100° bei den gespannten Dämpfen können nur unter einheitlichen Gesichtspunkten mit den Zahlen der anderen Versuchsbedingungen verglichen werden.

Temp.	Spannkraft	Gewicht von 1 cbm Dampf in Kilo	Gewicht von 1 cbm Luft		Penetrations-
	des Wasser- dampfes		a bei der betr. Temperatur	b bel dem betr. Druck und der Temperatur	kraft auf b bezogen
Grad	1				1
46	75	0,069	1,107	0,102	0,033
76	301	0,255	1,014	0,402	0,147
82	384	0,315	0,993	0,501	0,186
90	545	0,433	0,972	0,697	0,264
100	760	0,606	0,946	0,946	0,340
110	1,4 Atm.	0,832	0,913	1,278	0,436
120	2,0 ,	1,162	0,882	1,766	0,603
134	3 >	1,702	0,842	2,526	0,824
152	5 >	2,750	0,733	3,665	0,910

Aus der Spannkraft des Wasserdampfes ergeben sich die Siedepunkte des Wassers; hieraus läst sich ableiten, wie groß das Volumen der Luft unter einem Druck, der dem Siedepunkt des Wassers entspricht, wird, und da bei der betreffenden Temperatur die Dichte der Luft für den Kubikmeter berechnet ist, leitet sich das Gewicht der verdünnten

Luft leicht ab. Graphisch betrachtet stellt sich das Penetrationsvermögen als eine ziemlich rasch fallende Kurve dar. Schon bei 85—87° ist ein Drittel, bei etwa 68° das zweite Drittel verloren gegangen.



Der gespannte Dampf läßt die zunehmende Penetrationskraft in den Zahlen außerordentlich klar zum Ausdruck kommen.

Aus der Penetrationskraft allein für Wert oder Unwert einer Desinfektionsart einen Schluss zu ziehen, geht nicht an. Wir haben zunächst einen Umstand, der auf das Eindringen der Wärme neben Penetrationsvermögen einen großen Einfluss übt, zu erwähnen, das ist die Reinheit, d. h. Luftfreiheit des Dampfes.

Diese letztere steht in ganz direktem Zusammenhang mit der angewandten Luftleere, die den Siedepunkt erniedrigt; je vollkommener das Vakuum, um so reiner der Dampf. Dieser Faktor wirkt der Verminderung der Penetrationskraft geradewegs entgegen, so dass man hier vielleicht eine Kompensation erwarten kann. Bei der gewöhnlichen Dampsdesinsektion muss die Luft erst allmählich sausgewaschens werden. Dies geschieht oft schlecht, langsam und ganz ungenügend. Das Eindringen von Damps in die Poren wird oft lange Zeit gehemmt.

Aus meinen Darlegungen über die Dampfdesinsektion weiss man weiter, dass das Penetrationsvermögen allein nicht die Eindringungsmöglichkeit bedingt, sondern dass dem ersten Austausch zwischen Luft und Dampf a) die thermische Kondensation und b) die hygroskopische Anziehung als weitere Kräfte zur Verfügung stehen.

Aber sicher ist die Penetrationskraft von allergrößter Bedeutung, die Kondensation einzuleiten. Sie führt den Dampf zuerst an alle Kondensationsflächen heran und ebenso gilt dies für die Äußerung hygroskopischer Kraft.

Was den Umfang des in die Objekte eintretenden Dampfes anlangt, so mindert sich bei der thermischen Kondensation dessen Menge proportional der Abnahme der maximalsten Temperaturhöhen, welche erreicht werden können. Wenn man von einer Anfangstemperatur von 20° ausgeht, so sind bei 50° Dampf die Objekte um + 30°, bei 70° Dampf um 50°, bei 80° um 60° zu erwärmen, wozu natürlich bei 80° Dampftemperatur nur  $\frac{60}{80}$  des Dampfgewichts gehören, welche bei 100° notwendig ist, und bei 50° nur  $^{3}_{ls}$  des sonstigen Dampfgewichts. Die Dauer des Dampfstroms wird nicht in gleichem Maße sinken, weil gleiche Gewichte Dampf bei verschiedenen Temperaturen ungleiche Volumen besitzen.

Was die Wirkungen der hygroskopischen Kondensation betrifft, so ist deren Geschwindigkeit innerhalb weiter Grenzen von der Temperatur unabhängig, wenigstens für gesättigte Dämpfe. Der Sättigungsverlauf hygroskopischer Körper wird sich also nicht anders gestalten, ob wir mit Temperaturen von 60 oder 80 oder 100° zu tun haben. Der Effekt der Erwärmung der

Objekte wird unwesentlich geringer, wenn die Temperatur sinkt, wegen Minderung der totalen Verdampfungswärme des Wassers.')

Alles in allem genommen: Je niedriger die Temperatur, desto bedeutungsvoller die hygroskopische Anziehung, während die einfache Kondensation wahrscheinlich zurücktritt. Die Art der zu desinfizierenden Substanz, deren Vorbehandlung, treten mehr in den Vordergrund mit Sinken der Temperaturen beim Desinfektionsakt.

Wir finden, wie sich leicht zeigen läßt, daß mit sinkender Temperatur sich das Volumen des zur Erwärmung notwendigen Dampfes ändert.

Nehmen wir an, es handle sich um die Erwärmung von 1 g Baumwollstoff<sup>2</sup>), so bedarf dieser, um 1 <sup>0</sup> höher temperiert zu werden, 0,495 g·Kal.

Wenn man die Temperaturgrenzen 46,2°, 82° und 100° als Beispiele nimmt (s. Tab. S. 21), sind zur Erwärmung auf 100° C notwendig, falls die Anfangstemperatur = 20:

$$1.0 \times 0.495 \times 46 - 20 = 13$$
 g·Kal. an Wärme, für  $82 - 20 = 31$  . Diese können ge-

liefert werden aus der Kondensation

bei 50° bei 80° bei 100° 621,7 Kal. 627,8 Kal. 637,0 Kal. bei 20° 612,6 → 612,6 → 612,6 →

die Differenzen 9,1 Kal. 15,2 Kal. 24,4 Kal.

Die Unterschiede sind mit Rücksicht auf die absolute Größe der Kondensationswärme um so weniger von Belang, als ja auch der kalorische Wert der hygroskopischen Bindung hierbei noch aufser Rechnung gelassen wurde. (Siehe Hygien. Rundschau, 1898, a. a. O., Nr. 15.)

<sup>1)</sup> Mit sinkender Temperatur der Dämpfe sinkt auch der kalorische Wert bei der Kondensation, doch ist dieser Umstand nicht wesentlich, denn es beträgt die totale Verdampfungswärme:

<sup>2) 0,466</sup> spez. Gewicht. 53,4% Porenvolumen = 2,1 ccm Stoff.

Da Baumwolle dieser Art nach meinen Versuchen bis  $16.5\,^{\circ}/_{\circ}$  des Gewichtes an hygroskopischem Wasser aufnimmt, so trifft auf

1 g in minimo 0,165 g hygroskopisches Wasser.

Die hygroskopische Veränderung ist also aufserordentlich groß im Verhältnis zum Bedürfnis an Wasserkondensation zum Zwecke des Wärmegleichgewichts mit dem umgebenden Dampf. In noch höherem Maße gilt dies von Seide und gar von Wollengeweben.

Die hygroskopische Kondensation ist ein konstanter Wert, dessen Größe sich bei einzelnen Temperaturen nicht ändert; dessen Einfluß also mit sinkenden Temperaturen ein großer werden kann, wenn sich Hindernisse für die Wirksamkeit der hygroskopischen Anzielung nicht ergeben.

Da die hygroskopische Wasseranziehung eher beendigt sein muß, ehe Kondenswasser« entstehen kann, so ist also erstere Eigenschaft die wichtigere und bedeutungsvollere, wenn sie voll und ganz in Tätigkeit treten kann. Ihr kommt die Fähigkeit zu, auch bei niederer Temperatur nicht nur die Objekte auf Dampftemperatur zu bringen, sondern sie auch zu überwärmen. Von dieser Tatsache kann man sich experimentell leicht überzeugen, bei Dampf von 60—70° sind Überwärmungen, wie ich gesehen habe, um 8—10° keine Seltenheiten, auch dann, wenn nur mittlere Grade der Trockenheit vorhanden sind. Man steht bei dieser starken hygroskopischen Anziehung vor der Frage, ob nicht in der Mehrzahl der Fälle überhaupt diese einzig und allein ins Spiel kommt, und ob nicht die relative Trockenheit solchen Dampfes besondere Maßregeln gegen die Überhitzung, durch Vermeidung dicker Stofflagen u. ä. zur Voraussetzung hat.

Die Volumen des Dampfes, welche zur Erwärmung verbraucht werden, nehmen mit sinkender Temperatur nicht ab, sondern zu, denn es berechnet sich als nötig:

für	0,0216	g	Kondenswasser	0,314	1	Dampf,
•	0,0507	g	>	0,161	1	>
>	0,0648	g	>	0,110	1	•

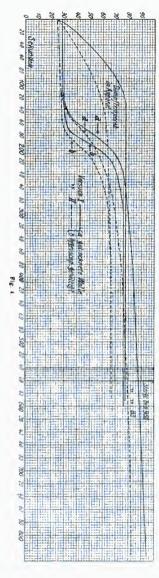
Wahrscheinlich wird hierdurch, abgesehen von der geminderten Penetrationskraft, die Erwärmungszeit verlängert; aber eben nur, wenn Sättigung mit relativer Feuchtigkeit vorausgegangen ist, was selten der Fall sein dürfte.

Es läfst sich a priori demnach nicht feststellen, wie sich die Dämpfe von niedrigerer Temperatur in ihren Eigenschaften hinsichtlich der Erwärmung von porösen Objekten verhalten werden. Das Experiment kann aber leicht entscheiden

Die Experimente über die Erwärmung der Objekte in Dampf von niedriger Temperatur wurden genau mit demselben Apparat angestellt wie die oben S. 217 angegebenen Versuche. Der Dampfkessel wurde zuerst unter negativen Druck gesetzt und dann in dem Versuchsraum die Siebkugeln mit getrockneter und feucht gehaltener Wolle eingesetzt. Durch zwei große Bomben, die schon vorher evakuiert waren, konnte momentan der Druck auf etwa 380 mm gebracht werden, der Restdruck bis 100 mm herab wurde durch 2 Wasserstrahlpumpen herbeigeführt. Es dauerte aber immerhin noch 15 Minuten oder mehr, ehe der Versuchsdruck erreicht war. Dies hatte keinen Nachteil für die trockene Wolle, wohl aber konnte ich nicht verhindern, daß die feucht gehaltene Wolle etwas Wasserdampf abgab. Dies hat man bei der Beurteilung des Nachstehenden im Gedächtnis zu behalten.

Zwei Reihen habe ich in der nachstehenden Zeichnung dargestellt, sie genügen zur Erläuterung der vorher theoretisch erörterten Umstände.

Das überraschendste Resultat ist die Tatsache, dafs im partiellen Vakuum die Erwärmung viel rascher beginnt als im Dampfraum von 100°. Man vergleiche mit Fig. 9. Die Ursache für das frühzeitige Ansteigen der Thermometer in den Objekten liegt in der großen Reinheit des Dampfes, und diese gleicht das geringe Penetrationsvermögen vollkommen aus. Nach dieser Richtung können sich also die gesättigten Dämpfe niedriger Temperatur ganz gut mit denen von 100° messen.



Die zweite Tatsache betrifft die Wirkung der thermischen und der hygroskopischen Kondensation, letztere ist sehr bedeutend und würde sich noch mehr ausgeprägt haben, wenn nicht die feuchte Wolle, wie oben schon bemerkt, etwas an Wasser eingebüßt gehabt hätte.

Man sieht es aber deutlicher aus folgendem Ergebnis. Bei 100° war der Anstieg von 20° erfolgt = 80° Zuwachs bei der hygroskopisch gesättigten Wolle, die trockne erreichte aber 115°.

(80:15) = pro 100 + 18.75°; in dem Versuch bei verdünnter Luft stieg das Thermometer in feuchter Wolle auf 65° = 45° Unterschied, in trockner auf 83° = 18° mehr, also

(45:18) = +40.0 bei 100 Differenz.

Der Wärmeüberschufs war für den trockenen Stoff also bei Luftverdünnung über 2 mal so grofs als bei Dampf von 100°, wie wir auch theoretisch vorausgesagt haben.

Der dritte Punkt betrifft die Geschwindigkeit des Anstiegs der Temperatur im steilen Teil der Kurve, der dann zum allmählichen Temperaturausgleich führt. Letztere legt von selbst nahe die etwas ungleiche Art der Kurven, als von der jeweiligen Temperaturdifferenz beeinflust oder vielmehr abhängig zu deuten; das wird am genauesten für die Kurve des feuchten Materials eintreten müssen, während das hygroskopische eine gewisse Beschleunigung im Verlaufe seiner Erwärmung erfährt.

Über die Art des Verlaufs der Kurve kann man sich unterrichten, wenn man voraussetzt, die Ursache für den Anstieg der Temperatur sei begründet in der Temperaturdifferenz zwischen Dampf und Objekt.

Nimmt man die Differenzen zwischen Kern der Siebkugel und der Temperatur des umgebenden Dampfes, so werden die Triebkräfte für die Wärme immer kleiner, aber die Differenz der Logarithmen der Temperaturunterschiede, dividiert durch die Zeit dieser Veränderung, wird eine konstante Zahl werden, als Ausdruck der Erwärmungsgeschwindigkeit.

Ich habe die Zahlen für die Temperaturdifferenz 25—51) berechnet und finde eine genügende Übereinstimmung; doch sieht man, daß die kleinsten Fehler der Zeitmessung schon einen erheblichen Einfluß gewinnen, und die Geschwindigkeit der Beobachtung eine noch größere werden müßte, um ganz sichere Werte zu erhalten. Aber es kommt für meinen Zweck nur darauf an, diese Beziehungen im großen und ganzen zu beweisen. Dazu genügen die Werte.

So findet man z. B. für Versuch S. 9 für trocken und feucht

194
125
118
120

<sup>1)</sup> Um gleichheitliche Verhältnisse in jeder Beziehung zu haben.

Ich schließe also, daß in der Tat für den rasch steigenden Teil der Kurve bis zum Temperaturabgleich die Temperaturdifferenz zwischen Dampf und Objekt, die Kondensationsmöglichkeit die Ursache der Erwärmung ist.

Bildet man aus je einer Reihe das Mittel, so stimmen diese nicht miteinander überein, weder für den Versuch mit trockener, noch auch mit feuchter Wolle.

Man erhält:

				Trockenes Objekt	Feuchtes Objek
für	Dampf	von	100°	0,0207	0,0115
>	>	>	1000	0,0149	0,0139
>	>	>	780	0,0137	0,0117
>	>	>	680	0.0099	0.0092

Die Differenzen könnten zum Teil, wenigstens bei  $100^\circ$ , in dem Einfluß von geringen Unreinheiten des Dampfes liegen, aber für  $78^\circ$  und  $68^\circ$  dürfte diese Annahme kaum zulässig sein, vielmehr scheint wahrscheinlicher, daß der dünnere Dampf mehr Zeit nötig hat, die Gegenstände zu durchdringen und zu erwärmen. Aus allen Versuchen geht außerdem die beschleunigende Kraft der hygroskopischen Wasserbindung auf die Erwärmung deutlich hervor. Sie ist am ausgeprägtesten bei dem ersten Versuch  $(+80,0\,^{\circ}l_{o})$ , sonst beträgt sie weit weniger  $(7-17\,^{\circ}l_{o})$ . Der Dampf geht also leicht in die Kondensation über durch die Anziehung von seiten der Substanz des zu erwärmenden Objektes.

Diese Beschleunigung der Hebung der Kurve ist nicht mit dem früheren Beginn des Steigens der Temperatur in dem trockenen Objekte überhaupt zu verwechseln.

Wenn ich mir auch nur zur Aufgabe gestellt hatte, die Durchwärmung poröser Objekte in teilweiser Luftleere zu untersuchen, so muß ich doch noch auf einige die Druckverminderung beim Desinfektionsakt betreffende Augaben eingehen.

Mehrfach begegnet man in der Literatur der Desinfektion Angaben hinsichtlich der Beschleunigung des Wärmedurchtrittes durch Objekte bei Erniederung des Luftdruckes. Noch vor wenigen Jahren hat v. Esmarch gemeint, das Eindringen der Wärme werde durch eine Verminderung des Druckes um 25-60 mm Quecksilber gesteigert. In einem solchen Falle sagt v. Esmarch¹): →Jetzt war auch eine erhebliche Steigerung der Desinfektionswirkung zu bemerken, vermulich weil die Luft schneller aus dem Flanell herausgezogen und durch Dampf ersetzt wurde. € Ich glaube zunächst, daſs bei den Testobjekten Esmarchs eine absolut gleichmäſsige Wirkung in einzelnen Versuchen überhaupt nicht vorausgesetzt werden kann, weil ihre gleichartige Beschaffenheit nicht näher kontrolliert war. Wenn man über die Durchdringungszeit vergleichende Angaben machen will, so gehört dazu in allererster Linie weder eine Flanelldecke, oder geschnürte Pakete, oder Roſshaare unbekannten Volumens, sondern eine Art der Herstellung eines Vergleichsobjektes, das peinlich genau gleiche Porengröſse garantiert.

Abgesehen davon, kann man einem Druckunterschied von 760 mm auf 735 oder 700 mm keinerlei konstantes Aussaugen von Luft aus Objekten zur Last legen. Nur mäßige Luftverdünnung wird eintreten, aber man beachte, was oben über den Einfluß von Druckminderungen bis auf 100—60 mm (absoluter Druck) gesagt ist, und man wird begreifen, wie belanglos Druckdifferenzen geringer Größe sind. Auch für die Reinheit des Dampfes gewinnen Druckminderungen nur an Wert, wenn sie bis zum Siedepunkt des Wassers im Kessel absinken und einen lebhaften Dampfstrom erzeugen.

Ich habe schon oben S. 219 angeführt, welchen Erfolg es hat, wenn man nach erreichtem Ruhezustand der Thermometer in den Vakuumapparat die Luft einströmen läst: die Thermometer steigen.

Es ist dies schon mehrfach angegeben und auch von Esmarch angeführt worden; er meint sogar, es lasse sich durch dieses Experiment leicht die Steigerung der Temperatur durch Kondensation zeigen. >Wurde gegen Ende des Versuchs absichtlich die Dampftemperatur um 1° vermindert, so das das Thermometer nicht mehr klingelt, begann es sofort

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, XII. 1902, S. 961.

damit wieder, sobald die Verbindung mit der Luftpumpe gelöst wurde und Luft in den Apparat einströmte. • 1) Die Temperaturzuwüchse richteten sich nach der Art der Verpackung, und betrugen etwa 4-5°, in einem Falle festverpackten Mungos bis 10°. v. Esmarch scheint anzunehmen, dass die Temperaturerhöhung sich nur auf die in das Dampsluftgemisch gelegten Substanzen bezogen habe.

Was man sich unter Kondensationswirkung vorzustellen habe, findet man nicht näher auseinandergesetzt, obwohl dies eigentlich recht notwendig wäre, weil der Ausdruck offenbar von verschiedenen Autoren mit verschiedenen Begriffen verbunden wird. Ist denn die Kondensation als Wärmequelle überhaupt eine Sache an der irgend jemand zweifelt? Wie soll denn die Erwärmung von Objekten im gesättigten Dampf überhaupt zustande kommen? Oder soll unter Kondensation etwas Besonderes und Eigenartiges verstanden werden? Etwa die Erwärmung von Objekten über Dampftemperatur? Diese ist aber, wie ich längst gezeigt, durch hygroskopische Anziehung bedingt und sollte bekannt sein. Sie braucht nicht erst auf eine »Kondensation« zu warten, denn ihre Kraft wirkt von Anfang des Desinfektionsaktes an!

Mit Rücksicht auf den Umstand, dass man sich auch sonst von diesen Kondensationswirkungen nicht zutreffende Vorstellungen macht, seien hier noch ein paar Worte angefügt.

Die Experimente Esmarchs sollen, so wie sie mitgeteilt werden, einen Beweis für Wärmewirkung durch Kondensation geben; wie man zu diesem Schlusse kommen müfste, ist durchaus nicht offensichtlich.

Es ist unzutreffend, wenn man aus einer Temperaturzunahme in den Objekten bei dem Einströmen von Luft auf eine »Kondensation« schliefst.

Läfst man überhaupt in ein Vakuum sogar ganz trockene Luft einströmen, so erfolgt allemal eine recht bedeutende Zunahme der Temperatur, weil die Luft mit großer lebendiger Kraft in den Raum stürzt und in

<sup>1)</sup> a. a. O., S. 968.

ihrer Bewegung gehemmt wird. Der Versuch, dies nachzuweisen, ist eines der Vorlesungsexperimente, die Tyndall so meisterhaft auszugestalten verstand. Die Wärmemenge ist so bedeutend, daß sogar, wenn kühle Luft einströmt, ein Steigen der Temperatur zu beobachten ist. Man kann das Experiment mit jeder Wasserstrahlluftpumpe und einfachsten Thermometern auch bei Temperaturen von 50° machen, und selbst bei nicht vollkommenem Vakuum in kleinen, leicht Wärme abgebenden Gefäßen einen Zuwachs von 3 und mehr Graden finden.

Also das Auftreten von Wärme nach dem Zutreten von Luft in den Vakuumapparat ist an sich etwas Bekanntes, die Wärme muß auch in den Objekten selbst entstehen.

Nehmen wir Gefäße, die mit etwas Wasser gefüllt sind und evakuieren bei 50°, so habe ich in diesen, wenn vorher das Wasser durch die Druckerniedrigung zum Sieden gebracht war, beim Einlassen der Luft eine geringere Temperatursteigerung gesehen als bei trockener Luft.

> bei trockener Luft + 2,80 ° • Wasserdampf + 1,57 °.

Das sind natürlich keine dauernden Wärmegewinne, sondern sie gehen mit dem erneuten Auspumpen wieder zurück, schnell wenn Wasser vorhanden ist, weil dann die Luft rascher wieder vom Dampf weggeführt wird als bei trockener Luft.

Zur Erläuterung der gewonnenen Zahlen muß man erwägen, daß die Wärme, die beim Einstürzen der Luft in das Vakuum erzeugt wird, beim Gefäß mit Wasserdampf in ihrem thermometrischen Effekt, d. h. die Temperatursteigerung von dem Wasserwert der Mischung« von Luft und Wasserdampf abhängig ist. Aber auch die Möglichkeit des Verdunstens von Wasser bei dem Außtürzen der Luft auf die Wasserfläche spielt mit.

Eine Kondensation von Wasserdampf läßst sich beim Einströmen der Luft trotz Zunahme der Temperatur einige Sekunden nach dem Akte der Vereinigung von Dampf und Luft erkennen, oft äußerst schwach, bisweilen auch stärker, deren Natur zum Teil auf ein Absinken der Temperatur an den Wänden des Gefäses, zum wesentlichen aber auf eine Abscheidung des nach Luftzutritt überschüssigen >Dampfes« geschoben werden muß. Solcher entsteht durch das Anprallen der Luft auf die feuchten Flächen, wobei lokal die Erwärmung größer sein kann als im Durchschnitt.

Dieser Wasserdampf kann in den Objekten selbst zur Ablagerung kommen und dadurch, wie S. 219 angegeben ist, Wärmeunterschiede erzeugen. Quantitativ zu sagen, welcher Anteil auf die Lufterwärmung fällt und welcher auf die Kondensation des Wasserdampfes, ist bei der Kompliziertheit der Verhältnisse unmöglich, da der oben erwähnte Wasserdampf nicht einmal imstande ist, die Temperatur des Gemisches von Luft und Wasserdampf aufsergewöhnlich zu heben, so kann er es auch nicht bei der Kondensation in den Objekten, nur findet sich dort Gelegenheit, daß die Wärme etwas mehr zusammengehalten wird wie in der Gas-Dampfgemenge.

Wir kehren zu unserer Hauptaufgabe zurück. Alles in allem genommen zeigt sich aus meinen Experimenten, daß die Erwärmung von Objekten nicht nur nicht im Vakuum langsamer, sondern geradezu sogar schneller verläuft, woran die Reinheit des Dampfes im allgemeinen und die hygroskopischen Eigenschaften der Stoffe im speziellen beteiligt sind.

Die geringen Schwierigkeiten, die heute noch einer Anwendungsweise im Großbetrieb entgegenstehen, sind so minimal, daß die Technik sie spielend überwinden kann.

Es empfiehlt sich, die gesättigten Dämpfe des partiellen Vakuums auch zur Desinfektion heranzuziehen, denn sie genügen für die vegetative Form vieler Organismen zweifellos an Tötungskraft, und die Durchdringungszeit der Objekte läst nichts zu wünschen übrig.

Dafs sie bestimmt sind, zusammen mit anderen Mitteln der praktischen Desinfektion eine neue Richtung zu geben, ist zweifellos. Die hier einschlägigen Fragen soll die nächste Abhandlung erörtern. Die wissenschaftlichen Grundlagen einer Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasserdämpfe und flüchtiger Desinfektionsmittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck.

#### Von

### Max Rubner.

# I. Kombination gesättigter Dämpfe und flüchtiger Desinfektionsmittel.

Da die Tötungskraft reinen Wasserdampfes bei Temperaturen unter 100° eine geringere wird und sehr große Zeiträume erfordert, die Durchdringungskraft der kühleren, gesättigten Dämpfe aber eine sehr gute genannt werden muß, werden sich Bedenken gegen die Anwendung dieses Desinfektionsverfahrens überwinden lassen, wenn man die Tötungskraft der Dämpfe durch Zusätze geeigneter flüchtiger Substanzen mit Desinfektionskraft erhöht.

Die Anwendung gasförmiger Desinfektionsmittel war lange Zeit hindurch als eine sehr wünschenswerte Erweiterung des Desinfektionsverfahrens angesehen worden. Sie geht in ihren Anwendungen sehr weit zurück, speziell die Benutzung der schwefligen Säure ist offenbar alt. Auch eines anderen Mittels, der Salzsäure, wäre zu gedeuken. Unter den Schriften Lavosiers ist eine, welche in dieser Hinsicht sehr interessant erscheint. In einer Abhandlung über die Gefängnisse schildert der Gelehrte die Maßregeln gegen ansteckende Krankheiten und erwähnt archiv für Hygtene. Bd. LVI.

dabei, neben der Desinfektion der Kleider durch Darren im Ofen eine Desinfektion der Stuben nach Morveau zu Dijon mittels dampfförmiger Salzsäure. Näheres über die Menge der angewandten Substanz wissen wir nicht. In der späteren Zeit hatte namentlich die schweflige Säure als Desinfektionsmittel die Oberhand gewonnen.

Die ersten Experimente der bakteriologischen Ära in den 80 er Jahren schienen der ganzen Art der Gasdesinfektion keine günstige Prognose zu stellen und noch bis 1896 findet sich in den weitverbreitetsten Büchern ein recht absprechendes Urteil über diese. Es ist ja richtig, daß Chlor, Brom, Salzsäure, schweflige Säure an großen Unzukömmlichkeiten leiden, weil sie von starker allgemeiner Wirkung sind, aber man hat doch gar zu radikal geurteilt. Das anfänglich gleichfalls sehr unterschätzte Ozon hat inzwischen den ihm gebührenden Platz in der Desinfektion erhalten. Einen totalen Umschwung brachte die Entdeckung der antiseptischen Wirkung des Formaldehyds durch Löw und Fisch er, und seitdem Buchner und Segall 1889 sich gleichfalls zugunsten dieses Körpers ausgesprochen haben, ist seine Anwendung eine außerordentlich mannigfaltige geworden.

Es war die Zeit gekommen, wieder die Luft als den Träger für ein Desinfektionsmittel zu verwenden wie von jeher die Räucherungen« und ähnliche Methoden eine besondere Anerkennung gefunden hatten. Die Bequemlichkeit der Anwendung und die Allgemeinheit der Verwendung wird solchen Methoden von vornherein einen gewissen und berechtigten Erfolg sichern.

Besonders gut haben sich die aus feuchter Luft und Desinfektionsgas zusammengesetzten Gemische bewährt, die man durch einfache Erhitzung von Formalinlösungen erhält.

Schon durch die Versuche von Ascoli<sup>1</sup>) hatte sich eine sehr große Tötungskraft der Formalindämpfe ergeben, wenn man auch zugeben muß, daß diese Experimente eine genauere Dosierung des wirklich in Aktion tretenden Formaldehyds nicht gestatteten.

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. Bakt., XVII, S. 849 (Referat).

In praktischen Fällen der Desinfektion hat Peerenboom¹) durch Versuche, die in meinem Laboratorium ausgeführt worden sind, genauere Angaben über den Formaldehydgehalt solcher Luftgemische, welche zur Zimmerdesinfektion dienen, gemacht. Dabei wurden sehr kleine Werte gefunden, die hinter den Größen, welche man aus der Anwendung des Formaldehyds — in Mengen von 2—3 g Substanz pro Kubikmeter Raum — hätte erschließen können, gewaltig zurückstehen.

Die Desinfektionskraft wird in vielen Fällen durch chemische Anziehungen und ein spezifisches Absorptionsvermögen der zu desinfizierenden Objekte für das Desinfiziens gesteigert, wie ich zuerst für das Formaldehyd nachgewiesen habe.

Neben der Wasserdampfdesinfektion hat demnach die Benutzung von Desinfektionsgasen« eine große Bedeutung in praktischer Hinsicht erlangt. Man darf die großen Schwierigkeiten nicht verkennen, die alle derartigen Desinfektionsmethoden zu überwinden haben.

Kehren wir also zu den Desinfektionsmöglichkeiten in geschlossenen Apparaten zurück, so ist nicht zu verkennen. dass hier die Wahrscheinlichkeiten für eine sichere Wirksamkeit viel günstiger sind, als die bei der Zimmerdesinfektion mittels der Luft als Träger des Desinfektionsmittels.

Wir haben gerade in der Verwendung der Desinfektionsmittel im reinen Wasserdampfstrom und bei erhöhter Temperatur Bedingungen, wie sie günstiger gar nicht gedacht werden können.

Im Wasserdampfstrom haben wir gesättigte Dämpfe zur Verfügung, eine schnelle Wasseraufnahme der Objekte und zugleich geben wir an Stelle der kaum penetrierenden Luft den Gemischen eine hohe Penetrationskraft.

Es muß ferner, wie man von vornherein sagen kann, auch die Wirkung der Desinfektionsgase bei etwas höherer Temperatur günstiger sein. Es ist bekannt, daß in vielen Experimenten gelöste Desinfektionsmittel besser in der Wärme als in der Kälte

<sup>1)</sup> Hygien. Rundschau, 1898.

von wenigen Minuten. Es würde also möglich sein, soweit nur die Frage der Abtötung der Mikroben selbst in Betracht kommt, sich einer solchen Versuchsanordnung zu bedienen. An Stelle des Dampfes als reagierendem Körper tritt in diesen Experimenten das dampfförmige spezifische Desinfiziens.

Die Tötungskraft durch mäßigen Zusatz von dampfförmigen Desinfektionsmitteln zu Dampfgemengen gesteigert, läßt ausreichenden Erfolg erzielen.

Nachprüfungen dieser Experimente haben mir gezeigt, daß die Wirksamkeit des Wasserdampfformaldehydgemisches im speziellen zweifellos sehr groß und noch bedeutender ist, als die obengenannten orientierenden Versuche haben erkennen lassen. Gesättigte Dämpfe mit 0,3—0,4% Gehalt an Formaldehydgas töteten noch bei 50° in rund ¼ Stunde Sporen, die den Dampf von 100° 5 Minuten aushielten, durch Mehrung des Formaldehydgehalts kann man bei genannter Temperatur von 50°, fast möchte man sagen, dieselben Tötungszeiten erreichen wie bei 100° und gesättigtem Dampf. Über die näheren Verhältnisse wird von anderer Seite berichtet werden.

Das Wesentliche einer solchen Desinfektionsweise, wie sie sich aus meinen Versuchen ableitet, bestände in der Anwendung eines reichlich sich entwickelnden strömenden Dampfes, der gesättigt und unter leicht herzustellenden Versuchsbedingungen eine schnelle Entlüftung der Desinfektionsapparate, also jene Bedingungen, die wir als die günstigsten kennen gelernt haben, zu erreichen erlaubt.

Man könnte nach dem Vorstehenden die Vorarbeiten für diese Desinfektionsweise für abgeschlossen halten. Ich habe aber doch geglaubt, ehe man diesen Weg betrete, müßten die Grundzüge, auf denen die Methodik fußen muß, noch eine weitere Klarstellung und Erörterung erfahren. Dazu bedarf es in der Tat aber noch weiterer recht mühevoller Arbeiten, über die nachstehend referiert werden soll.

Ehe wir hierauf eingehen, seien noch einige literarische Angaben gemacht.

Das zu untersuchende Prinzip soll sein, die Darlegung des Desinfektionswertes von gesättigten Wasserdämpfen bei niedrigem Siedepunkt und ihre Verstärkung durch dampfförmige Desinfizienten.

In dieser Form hat man die Desinfektionsfrage bis jetzt nicht behandelt, wenn auch einige ähnlich aussehende empirische Versuche angestellt worden sind.

Die Société chimique des usines du Rhône hat seinerzeit (1897) zu Marseille Versuche vorgeführt, bei denen in einem großen Desinfektionsapparat eine Luftleere von 60 mm Hg hergestellt und dann Formalindämpfe aus einem Autoklaven eingeleitet wurden. ¹) Die mit Roßhaarballen geprüfte Leistungsfähigkeit war gering. Es ist schwer zu sagen, welche physikalischen Bedingungen hierbei jedesmal gegeben waren, da Gehalt an Desinfiziens, Feuchtigkeit und Temperaturschwankungen einer Variation ausgesetzt waren.

Nachdem ich gezeigt habe, das bei der Dampsdesinsektion die Lufträume von porösen Körpern sich nicht einmal, sondern nach der Art der Objekte 60 mal, 100 mal und 200 mal mit Damps füllen, kann man ohne weiteres ermessen, wie wenig ein einmaliges oder selbst zweimaliges Evakuieren zur Erhöhung der Wirksamkeit einer Desinsektionsmethode beitragen könnte.

In der vorhergehenden Abhandlung habe ich bereits näher die Wirksamkeit geringer Vakua auf den Desinfektionsgang auseinandergesetzt.

Rositzki?) hat überhitzten Dampf durch einen mit Formaldehyd gefüllten Sprayapparat geblasen und diesen Sprühregen in den mit den zu desinfizierenden Objekten beschickten Raum geleitet. Wahrscheinlich hat es sich dann um gesättigte Wasserdämpfe von sehr hoher Temperatur gehandelt, genaueres läßt sich nicht darüber aussagen.

Wasserdämpfe von 100° durch Formaldehyd zu verstärken, wie Kokubo es getan hat, dazu dürfte nur in Ausnahmsfällen

<sup>1)</sup> Den Versuchen habe ich zum Teil auch beigewohnt. Siehe auch Dunbar und Muschold, Arbeiten aus d. Kais. Gesundheitsamt, 1898.

<sup>2)</sup> Münchner med. Wochenschr., 1899, S. 1372.

Anlass vorliegen, da man bis jetzt eigentlich allen Aufgaben der Desinsektion durch 100° Dampf allein gerecht wurde. 1)

Esmarch²) hat Versuche gemacht und in einem Kessel 1% Formaldehydlösung erhitzt und schon bei 70° Wärme eine Wirkung und Abtötung gesehen, namentlich wenn er den Druck um ¹/15—¹/50 Atmosphären minderte. Die Versuchsbedingungen sind hier so verwickelt, daſs man schwer sagen kann, was eigentlich vorgelegen haben mag. Gesättigter Dampf kann es nicht gewesen sein, der 1 proz. Formaldehyd siedet bei einem Druck von 700—720 mm Hg ja gar nicht unter Entwicklung eines Dampfes von 70°, sondern bedarf einer etwa bei 98° gelegenen Temperatur. Es kann also nur eine Mischung von Dampf und Luft vorgelegen haben; jedenfalls handelt es sich nicht um das Prinzip einer konstanten Dampfentwicklung bei niedrigem Siedepunkt.

Am ehesten könnte man dies Verfahren ein Dämpfungsverfahren heißen; so ist es auch von anderen späterhin aufgefaßt und nachgebildet worden.

Wenn man weiß, welch enormen Einfluß die Unreinheit des Dampfes auf den ganzen Desinfektionsverlauf haben muß, so muß ich sagen, es ist wünschenswert, daß alle derartigen mit unberechenbaren Dampf-Luftgemischen arbeitenden Methoden dauernd verlassen bleiben. Jedenfalls wäre es immer notwendig, sich durch einfache Messung, wie ich sie vor Jahren angegeben, von der Dampfbeschaffenheit zu überzeugen!

Die Versuche Esmarchs sind 1894 von Kister und Trautmann mit größerer Variation des negativen Druckes nachgeprüft worden. Meist war die Ausführung so, daß ein Apparat von 1 cbm Inhalt von außen durch Gasheizrohre erwärmt wurde. Im Innern dieses Apparates war eine Schale mit Desinfektionsfüssigkeit. Der Raum stand mit einer Luftpumpe in Verbindung. Auch dabei kommt in Analogie zu den Experimenten Esmarchs, Luft, Wasserdampf, Desinfiziens, also ein variables Gemisch, aber kein regulärer Dampfstrom zustande. 3)

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. Bakt., I, 32, S. 234.

<sup>2)</sup> Hygien, Rundschau, XII.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. Hygiene, 46, S. 381.

Wir sehen also, dass die Benutzung von Dampf und Desinfektionsmitteln zwar probeweise da und dort versucht wurde, aber nie in einer Weise, die zweckmäsig ist, und auf unseren neueren Erfahrungen der Dampsdesinsektion beruht.

Die Desinfektion muß sich immer auf solche Einrichtungen stützen können, deren physikalische Bedingungen genügend erkannt sind, und so weit sich beherrschen lassen, daß man sie in stetig gleicher Weise erreichen kann. Soweit man bis jetzt Experimentein der Verwendung von Dampf-Formaldehydgemischen gemacht hat, genügen sie also den an sie zu stellenden Anforderungen nicht. Deshalb auch die schwankenden Angaben, die zweifelhaften Effekte.

Ich lege zunächst gar kein Gewicht darauf, ob man eine Kombination der heißen Wasserdämpfe gerade mit Formaldehyd durchführen will, die Frage muß allgemein behandelt werden, denn es gibt ja neben dem Formaldehyd doch noch genug andere flüchtige Körper, welche gleichfalls höhere Desinfektionskraft besitzen, also verwendbar sind, und wahrscheinlich werden wir im Laufe der Zeiten noch mehrere derartige Stoffe kennen lernen. Die Industrie könnte sich durch die Herstellung solcher Produkte ein neues Feld der Tätigkeit schaffen.

Soweit die Vorversuche haben erkennen lassen; ist es leicht, bei 50° noch durch Zusatz von Dämpfen des Desinfektionsmittels einen Erfolg zu erzielen, wenn man diese von mehrprozentigen Lösungen der Karbolsäure oder des Formaldehyds sich entwickeln läßt.

# Über die Beziehungen zwischen Konzentration der verdampfenden Lösung und des Destillates bei gewöhnlichem Druck.

Ehe man sich an eine systematische Verwendung der flüchtigen Desinfektionsmittel heranwagen kann, muß als erste und wichtigste Aufgabe betrachtet werden, die Herstellung von Dämpfen bekannter Zusammensetzung. Das hat man bisher nie unternommen.

Trotz der bereits recht häufigen Anwendung von flüchtigen Mitteln zur Zimmerdesinfektion und ähnlichen Aufgaben fehlt es uns zurzeit vollkommen an einer wissenschaftlichen Grundlage der einschlägigen Verhältnisse.

Meist hat man nur die Konzentration des zur Verdampfung verwendeten flüchtigen Körpers gekannt, oder die Menge desselben u. dgl.

Dass die wirksame Konzentration eine ganz andere als die der Lösung sein kann, hat man fast nie in Betracht gezogen. Die Wirksamkeit flüchtiger Desinsektionsmittel hängt nach verschiedenen Richtungen hin von der Zusammensetzung der Dämpse ab.

Je nach der Reichhaltigkeit des neben dem Wasserdampf vorhandenen desinfizierenden Dampfes kann das spezifische Gewicht des Gemisches sich ändern und das Penetrationsvermögen einer Beeinflussung unterliegen. Weiter ist es notwendig, näheres über die Beziehungen zwischen Zusammensetzung der Dämpfe und Konzentration der Lösungen zu erfahren.

Man scheint bis jetzt angenommen zu haben, dass besondere Kenntnisse und eine Feststellung der Konzentration einer verdampsenden Desinsektionslösung gar nicht nötig seien, denn es sinden sich, soweit hier überhaupt interessierende Versuche vorliegen, immer nur Angaben, dass man z. B. eine Formaldehydlösung bestimmter Konzentration verdampst habe, dass eine 2 proz. Lösung besser gewirkt habe als eine 1 proz. oder ähnliche unbestimmte Hinweise. Man kann aber von vornherein nicht sagen, welche Konzentration die Dämpse eines bestimmten Flüssigkeitsgemisches von Ansang an oder nach bestimmten Zeiten haben werden. Es ist hierüber noch keine allgemein gültige Gesetzmäsigkeit bekannt, wenn auch zweisellos solche Beziehungen bestehen müssen. Wir werden uns vorläufig noch mit der experimentellen Untersuchung solcher Fragen beschäftigen müssen.

Eine Rolle spielt die Variation des Siedepunktes des Desinfektionsmittels. In manchen Fällen haben die Mittel oft einen sehr geringen Einflus auf den Siedepunkt, in anderen einen sehr beträchtlichen. Man findet später die Zahlen für zwei flüchtige Substanzen, die Karbolsäure und den Formaldehyd in wässeriger Lösung angeführt. Die erstere verändert die Siedetemperatur nur wenig, dagegen haben wir bei den verschiedenen Formaldehydkonzentrationen wesentliche Variationen der Siedepunkte.

Endlich hängt mit der Frage noch eine reinbiologische Prüfung, nämlich die Tötungskraft der Dämpfe von verschiedener Konzentration zusammen. Man wird festzustellen haben, wie diese mit der Konzentration der Desinfektionsgase zusammenhängt, wobei sich selbstredend keine gleichbleibende Funktion zwischen Konzentration und Tötungskraft wird finden lassen, weil zum mindesten eine Mehrung der Konzentration über eine praktisch befriedigende Tötungskraft hinaus nutzlos sein mufs. Auf die weitere Behandlung dieser biologischen Seite will ich vorläufig verzichten. (S. o.)

Wir wenden uns zuerst der Frage über die Beziehungen zwischen Konzentration der Lösung und des Dampfes zu. Hierin können uns zuerst die Versuche über die Spannkraft von Dämpfen einen wertvollen Fingerzeig geben.

Die Veränderung der Spannkraft des Wasserdampfes durch eine bestimmte Menge Salz ist bei verschiedenen Temperaturen verschieden, sie wächst, wenn die Spannkraft selbst größer wird, also mit Zunahme der Temperatur. In einigen Fällen z. B. ClNa,  $SO_4$  Na<sub>2</sub> ist das Sinken des Dampfdrucks (v) wenn  $S = Spannkraft <math>v = a \cdot S$ .

In anderen Fällen nimmt die Verminderung mit steigender Temperatur rascher zu, wie z. B. bei Kalisalpeter.

Sind a und b durch Experiment zu bestimmende Konstanten, so wäre z. B.  $v = a S + b S^2$ .

In anderen Fällen liegt eine entgegengesetzte Erscheinung vor, z. B. bei  $SO_4$   $K_2$ , so dafs  $v=a\,S-b\,S^2$  wird 1) usw.

<sup>1)</sup> Nach der Darstellung von Wüllner, Bd. III, S. 690.

Dementsprechend verhalten sich also die Siedepunkte bei verschiedenen Lösungen sehr verschieden. Komplizierter liegen noch die Verhältnisse bei Gemischen von Wasser mit Flüssigkeiten.

Wüllner stellt diese Verhältnisse etwa wie folgt dar.

Die Spannkraft der Dämpfe in Flüssigkeitsgemischen ist je nach der Natur der Substanzen, die sich mischen, eine sehr wechselnde.

Bei Flüssigkeiten, die sich nicht gegenseitig lösen, wie Wasser und Schwefelkohlenstoff, liegt die Sache am einfachsten, denn die Spannung ist gleich der Summe der Spannung der Komponenten. Stoffe, die sich dagegen in allen Verhältnissen mischen lassen (Wasser, Alkohol) zeigen in der Dampfspannung ein anderes Verhalten, verschieden je nach der Mengung. Spannung des Gemengdampfes steht zur Summe der Spannungen der Dämpfe der Bestandteile in einem nahezu konstanten Verhältnis. Diese Konstanz war in den Versuchen von Wüllner vollständig, sobald die Gewichtsmengen, in denen die Flüssigkeiten gemischt waren, nahezu gleich sind, beim Überwiegen des einen Teils kann dieser Quotient mit steigender Temperatur zu- oder abnehmen. Die Spannkraftskurve des Gemisches scheint sich vielfach eben der Spannkraftskurve des überwiegenden Teils zu nähern.

Für andere Körper fand Konowolew zum Teil erhebliche Abweichungen von diesem Gesetze (Ameisensäure, Essigsäure usw.).

Hier nahm die Verhältniszahl auch bei gleicher Quantität der Mischung mit steigender Temperatur zu. Auch kommen Fälle vor, bei denen die Spannkraft nicht zwischen den Spannkräften der Bestandteile liegt, sondern den Flüchtigsten überschreitet oder kleiner ist als jeder der Bestandteile.

Während bei den Gemischen, deren Spannkraft zwischen dem ihrer Bestandteile liegt, mit Zunahme der flüchtigen Bestandteile in der Mischung die Spannkraft stetig wächst, gibt es bei denen, deren Spannkraft die der Komponente übersteigt, ein Gemisch mit einem Maximum an Spannkraft. Bei denen, deren Spannkraft kleiner ist als die jedes der Bestandteile, hat

ein Gemisch ein Minimum, das bei Zusatz flüchtiger oder auch weniger flüchtiger Bestandteile überschritten wird.

Mischungen, deren Spannkraft zwischen derjenigen der Bestandteile liegt, haben keinen konstanten Siedepunkt, weil die flüchtige Substanz verdampft. Flüssigkeitsgemische, bei denen ein Maximum oder ein Minimum vorkommt, verdampfen bei dieser Temperatur wie eine einfache Flüssigkeit; z. B. 25 Teile Buttersäure und 75 Teile Wasser, sowohl Zusatz von Wasser als auch von Buttersäure erhöht den Siedepunkt.

Aus einer Lösung mit viel weniger Buttersäure kann man diese ganz abdestillieren und es bleibt reines Wasser zurück, aus einer Lösung mit mehr als  $25\,\%$  Buttersäure verdampft dagegen das Wasser und es bleibt Buttersäure zurück.

Aus dem Gesagten ergibt sich ohne weiteres die Notwendigkeit, für die Zwecke der Desinfektion die nötigen Grundlagen zu schaffen, was ja um so eher unternommen werden kann, als die Zahl der vorläufig in Frage kommenden Mittel keine allzugroße ist.

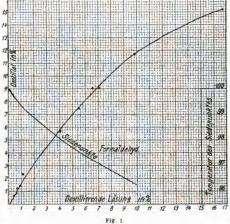
Ich habe daher für einige wesentliche Desinfektionsmittel diese Beziehungen zwischen Destillat oder Dampfzusammensetzung und Stammflüssigkeit von Dr. Kuhts näher feststellen lassen.

# a) Formaldehyd.

Zur Methodik sei folgendes angegeben. Das verwendete Formalin wurde auf Formaldehyd titrimetrisch untersucht.

In einem geräumigen Metallkessel waren etwa 5 l Flüssigkeit. Davon wurde abdestilliert, die Destillate gemessen, titriert und so der jeweilige Gehalt der Kesselflüssigkeit zu Anfang und zu Ende der Periode erfahren. Das verdampfende Wasser wurde in einem Teil der Versuche nicht ergänzt, um den Bedingungen der üblichen Verdampfung zu entsprechen. In anderen Fällen wurde der Wasserverlust annähernd abgeglichen; es wurden neben diesen Experimenten auch solche gemacht, in denen allmählich mehr Formaldehyd eingetragen wurde, um eine steigende Reihe des Formaldehydgehalts zu gewinnen.

Die Zahlen dieser Reihe wurden kombiniert und daraus folgende Kurve abgeleitet.



Der Verlauf derselben hängt nicht nur von der Konzentration der Lösungen, sondern zweifellos von den Siedepunkten ab, und diese sind im Laufe der Experimente wechselnd. Ich habe zwischen 10 % und 1 % den Siedepunkt festsetzen lassen und die Ergebnisse gleichzeitig in die Kurve eingetragen; man lese rechts die Temperaturen der Siedepunkte und links die Konzentration des Destillats. Die letzte hat fast allemal eine höhere Konzentration wie die Lösung, je geringer die letztere, um so höher der Siedepunkt und um so stärker der Gehalt des Destillats an Formaldehvd.

Daraus ergeben sich manche nicht uninteressante Konsequenzen auch für die Formaldehyddesinfektion im allgemeinen; bei dem Verdampfen wässeriger Lösungen erhält man mit der Zeit ganz wesentliche Schwankungen des Formaldehydgehalts,

gleichmäßige Ströme dagegen bei der Vergasung der Pastillen von Formaldehyd, bei dem Versprayen von Flüssigkeiten hinwiederum unter Umständen und je nach Ausführung andere Verhältnisse.

Obige Zahlen über die Konzentration der Destillate sind deswegen von besonderem Interesse, weil wir uns vorstellen dürfen, daß bei der Kondensation Wasser und Desinfiziens in dem gleichen Verhältnisse wie diese Zahlen angeben, vorhanden sein müssen.

Solange Dampfform besteht, liegen die Volumverhältnisse anders. Wenn bei 1 proz. Lösung das Destillat 1,6% Formaldehyd liefert, so werden in 100 l Dampf von 100 % (rund statt 99,4) 1,00 Gewichtsteile Formaldehyd vorhanden sein.

Formaldehyddampfgemische haben ein höheres Gewicht als einfache Wasserdämpfe, doch dürfte dies auf das Penetrationsvermögen keinen wesentlichen Einflufs üben.

Auch wenn hochprozentige Lösungen überdestillieren (15—16%), ist die Zunahme des mittleren Gewichts von Wasserdampf und Formaldehyd¹) nicht sehr nennenswert (statt 0,61: etwa 0,64) und deshalb die Einbusse an Penetrationsvermögen zwar vorhanden, doch nicht bedeutend. Ähnlich dürfte es bei allen anderen gasförmigen Desinfektionsmitteln, die nachstehend noch behandelt werden, sich verhalten, wie ich durch eine Überschlagsrechnung gesehen habe.

Der Gehalt des Dampfes ist bei niedriger Konzentration der destillierenden Lösung wesentlich höher als letztere. Eine 1 proz. Lösung entspricht 1,5 % Destillat, eine 2 proz. Lösung ein 3 % Destillat usw.

## b) Karbolsäure.

Ebensogut wie Formaldehyd kann man Karbolsäure den Dämpfen beimischen. Es ist auffallend, daß man in den letzten Jahren dies Desinfeziens hat so sehr in den Hintergrund drängen lassen. Die Karbolsäure wurde ebenso untersucht wie vorstehend der Formaldehyd.

<sup>1)</sup> Formaldehydgas ist 1,6 mal so schwer wie Luft.

256

Für die Karbolsäure kann man alle wünschenswerten Angaben aus der graphischen Darstellung ersehen. Für die Zahlen 8,3 % und 7,6 % der Destillate bemerke ich, dass dies nicht Lösungen, sondern Emulsionen gewesen sind, wie sich ja ohne weiteres von selbst ergibt. Da der Siedepunkt selbst einer 6 proz. Karbolsäurelösung nur wenig über 100 ° steht, ist unterlassen worden, näher darauf einzugehen.

Die Destillate haben stärkere Konzentration als die destillierende Flüssigkeit, doch ändert sich das Verhältnis mit stei-

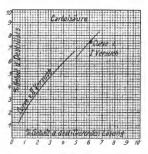


Fig. 2.

gender Temperatur, Destillat und Destillierendes werden sich ähnlicher.

Wir erhielten mit den Dämpfen bis 8 % Karbolsäure, der natürlich eine hohe Desinfektionskraft zukommt. Die Destillate sind dann milchig und müssen für die Bestimmung vorher noch mit Wasser verdünnt werden.

Wahrscheinlich ist es unzweckmäßig, mit der Konzentration der Karbolsäure nennenswert über  $5\,{}^o/_{\!o}$  hinauszugehen, da ja die Ablagerung von Öltröpfehen nicht im Interesse des Desinfektionsverfahrens liegen dürfte. Sehr verwendbar ist nach der Breite der zulässigen Konzentrationen beurteilt, die Karbolsäure nicht, wenigstens dem Formaldehyd steht sie weit nach.

### c) Die schweflige Säure.

Die Versuche mit schwefliger Säure machten große technische Schwierigkeiten. Die Säure ist im Wasser, das mit SO2 gesättigt wird, auch in absorbierter Form enthalten, welcher Anteil alsbald in größere Menge beim Destillieren übergeht und durch einfache Kondensation im Kühler nicht zurückgehalten wird, sondern durch eine geeignete Absorptionsflüssigkeit fixiert werden muß. 1)

Der Gang der Untersuchung wird am besten an der Hand des dazu benützten Apparates beschrieben werden.

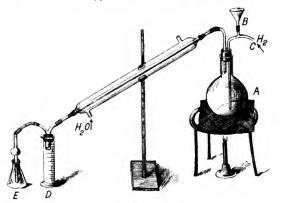


Fig. 8.

Nachdem durch einen  $H_2$ -Strom von C aus die Luft im Destillationskolben A verdrängt worden war, läfst man bei B eine gemessene Menge konzentrierter  $SO_2$ -Lösung und Wasser einfließen. Dann wurde bei B und C abgeschlossen und destilliert. Was sich kondensierte, wurde im Meßzylinder D aufgefangen, gasförmig übergehende schweflige Säure in E durch Natriumbikarbonatlösung festgehalten.

Die Versuche sind von Dr. Brunner ausgeführt worden.
 Archiv für Hygiene. Bd. LVI

### I. Versuch.

Temperatur der Luft 20°, des Kühlwassers 18°. Ausgangslösung: 410 ccm von 0,168°/ $_{o}$  Gehalt SO $_{s}$ . Titriert wurde die schweflige Säure teils mit  $\frac{n}{5}$ , teils mit  $\frac{n}{20}$  Jodlösung bei Gegenwart von überschüssiger Na HCO $_{s}$ .

		1	Destil	late:	Gleichzeitig übergegangen:					
1.	_						gasförmig:	0,108	g SO,	
2.	11	$\mathbf{ccm}$	von	3,206	%	80,	,	0,0378	<b>,</b> ,	
3.	21	,	,	0,529	,	•				
4.	27		,	0,033	,					
5.	32	•	•	0,004	•	•				
6.	100	,	,	0,0006	•	,				
7.	109	,	,	0,0003		,				
R	Im	Dont	illati	onekoll	nan	W17 P	ii.kaahliaha	n ·		

 Im Destillationskolben zurückgeblieben: 112 ccm von 0,001 % SO<sub>2</sub>.

#### II. Versuch.

Temperatur der Luft: 20°, Temperatur des Kühlwassers 17°. Konzen tration der Ausgangslösung 1,376 SO, in 410 ccm, also 0,336°/<sub>0</sub> SO<sub>2</sub>.

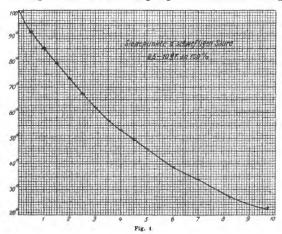
	Destillate:						Gleichzeitig gasförmig übergegangen:				
1.	-						0,2752 g SO <sub>2</sub>				
2.	10	ccm	von	6,016	%	80,	0,1101 > >				
3.	22	•	,	1,225	,	,	0,0115 > >				
4.	29	•	,	0,066	,	,	0,0013				
5.	32	,	•	0,008	•	,					
6.	100	,	•	0,0006	,	,					
7.	105	•	•	0,0003	,	,					
8.	Im	Dest	illati	onskoll	en	zur	ückgeblieben:				
		113	cem	von 0,0	000	B %	SO <sub>2</sub> .				

#### III. Versuch.

Temperatur der Luft: 22 °. Temperatur des Kühlwassers: 19 °. Aus gangslösung: 410 ccm von 0,662 °/ $_{\circ}$  SO $_{3}$ .

		Dec	stillate	):	Gleichzeitig gasformi übergegangen:				
1.	_						0,5971	g 80,	
2.	11	$\mathbf{ccm}$	von	7,616	%	80,	0,6234	<b>,</b> ,	
3.	13	>	,	2,535			0,0192	<b>&gt; &gt;</b>	
4.	24	>	•	0,341	,	•	0,0034	<b>&gt;</b> >	
5.	30	>		0,113	,		0,0008	<b>,</b> ,	
6.	35	,	,	0,002	,	•			
7.	109	•	•	0,0003		>			
8.	102	>	,	0,0002	,	,			
9.	Im	Desti	llatio	nskolbe	n a	urüc	kgeblieb	en:	
	87	ccm	von	0,0005	10 8	8O <sub>2</sub> .			

Die Siedepunkte der Lösung von schwesliger Säure sind einem fortwährenden Wechsel unterworfen, wie man aus nachstehender Kurve ersieht; ein einheitlicher Strom von schwesliger Säure lässt sich also nur unter ganz besonderen komplizierten Verhältnissen herstellen. Die Dämpfe hoch konzentrierter Lösungen sind zu kühl, um genügende Desinsektionswirkung



zu entfalten. Es ist auch sehr schwer, den Dämpfen eine ausreichende Menge von Feuchtigkeit zu geben, wenn es sich um die Desinfektion großer Räume handelt. Schon deshalb wird diese Säure und ähnliche Stoffe eine geringe Verwendung finden können. Auch die Zersetzung organischer Stoffe durch die sich in Schwefelsäure verwandelnden Säure, die bleichende Wirkung auf viele Farben, rechtfertigt die geringen Anwendungen dieses Körpers.

d)

Keinerlei Verwendung zur Desinfektion im größeren Stil
hat das Ozon gefunden, wenn man von der Wasserreinigung

absieht. Es eignet sich auch gar nicht für die vorliegenden Zwecke<sup>1</sup>), da wir es nur als Luftozongemisch herstellen und verwenden können und Luft mit einer Dampfdesinfektion sich nicht gut verträgt.

Günstiger liegen die Resultate für Wasserstoffsuperoxyd, da dieses mit Dämpfen in Anwendung treten kann. Wir kommen auf dasselbe später eingehender zurück. Für die einfache Verdampfung ist dasselbe wegen der leichten Zersetzung völlig ungeeignet.

Aus den gegebenen Beispielen ersehen wir, dass man bei Anwendung der Desinfektionsmittel nicht beliebige Temperatur anwenden kann, sondern bei einigen mit Varianten des Siedepunkts von erheblicher Größe wird rechnen müssen. Die gelegentliche Anwendung von Temperaturen, die unter Siedehitze des Wassers liegen, ergibt sich damit von selbst.

Die Dämpfe können ferner sehr reich an wirksamer Substanz sein. Dies trat uns besonders beim Formaldehyd entgegen.

Die gasförmigen Desinfektionsmittel bedürfen, um einen gleichmäßigen Desinfektionsstrom zu geben, sehr sorgfältiger Überwachung.

Führt man diese Desinfektionsweisen in der Praxis ein, so wird schon aus Sparsamkeitsgründen der kondensierte Dampf mit dem Desinfektionsmittel immer wieder durch eine Pumpe dem Kessel zugeführt und ein steter Kreislauf unterhalten, wie ich es bereits an einem Modell habe ausführen lassen.<sup>2</sup>)

Dadurch erhält man noch weiter die aufserordentlich wichtige Möglichkeit eines absoluten gleichmäßigen Gasstroms.

Die Tötungskraft der hier in meinen Versuchen gewonnenen Dämpfe ist zweifellos eine sehr große, besonders dort, wo man

Am ehesten noch in der Form einer Kombination — vorherige Dampfdesinfektion (niedere Temperatur) dann Luft-Ozonmischung durchleiten

<sup>2)</sup> Der für die Dampfdesinfektion bei vermindertem Luftdruck benützbare Apparat ist für Institut nach meinen Angaben von der Firma Lautenschläger hergestellt worden.

zugleich die Temperatur von 100° ganz oder fast ganz erreichen kann.

Man wird nur selten in die Lage kommen, eine Tötungskraft, welche diejenige des Dampfes von 100° überschreitet, zu verlangen, allenfalls noch am ehesten bei ungesättigten Dämpfen, wenn diese Aktion anfängt, unbefriedigend zu werden.

Weit wichtiger ist die Verwendung von gesättigten Dämpfen unter 100° mit dem Ziele, das wir uns eingangs bei unseren Betrachtungen gestellt haben: Verminderung hoher Temperaturen, Erhöhung der Tötungskraft. Dieses Ziel lässt sich nur durch die Erniedrigung des Luftdruckes und Herabsetzung des Siedepunktes erzielen. Auf diese Frage aber müssen wir in einem besonderen Abschnitte eingehen.

### III. Künstliche Erniedrigung des Siedepunktes.

Wir haben gesehen, dass der Siedepunkt mancher Desinfektionsmittellösungen erheblich vom Siedepunkt des Wassers abweichen können, und dass es daher unberechtigt ist, diesen Umstand, wie bisher mehrfach geschehen, ausser acht zu lassen.

Ebenso erfordert die gesetzmäßige Beziehung zwischen Gehalt der Lösung und des Destillates wegen der erheblichen in Betracht kommenden Differenzen besondere Beachtung.

Indem ich für die wesentlichen oder in der Praxis verwertbaren Stoffe nunmehr Anhaltspunkte gegeben habe, wende ich mich der spezielleren Aufgabe zu, die Verwendbarkeit der Dämpfe von Desinfektionsmitteln bei künstlich erniedrigtem Drucke zu untersuchen. Sie sollen uns die Wärmedesinfektion zum Teil ersetzen.

Eine solche Untersuchung ist keineswegs überflüssig. Die Spannungen einer Mischung von Flüssigkeiten hängt von deren Komponenten ab, wenn auch diese Funktionen verwickelt sind. Die Spannung der Komponenten ist bei verschiedener Temperatur verschieden, die Tension der Dämpfe hängt von der Natur der Substanz in erster Linie ab. Bei verschiedenen Temperaturen würde die Tension zweier Stoffe in vielen Fällen in ihren gegenseitigen Beziehungen oder Summen Differenzen aufweisen. Daraus

folgt, daß auch bei dem Sieden unter vermindertem Druck keineswegs dieselben Relationen zwischen Wasserdampf und anderen Dämpfen (im Hinblick auf die Desinfektion) vorhanden zu sein brauchen, und man darf nicht aunehmen, daß wenn der Luftdruck erniedrigt werde und der Siedepunkt sich erniedrigt, die entweichenden Dämpfe dieselbe Zusammensetzung haben, was auch die Höhe der Siedetemperatur sein mag.

Inwieweit aber durch diesen Faktor — Siedepunktvariation — eine Änderung in der Konzentration der entweichenden Dämpfe eintritt, scheint nicht bekannt, bedarf also einer eingehenden Prüfung; ich habe daher für die obengenannten wesentlichen Desinfektionsmittel Versuche durch Dr. Nawiaski austellen lassen, um die gesetzmäßigen Beziehungen herauszufinden. Dieses ist auch erreicht worden.

Die Methode war folgende: Es wurden jedesmal 300 cem Flüssigkeit der Destillation unterworfen und 100 ccm abdestilliert. Die dabei entwickelte Dampftemperatur wurde gemessen. In den früheren Angaben bezieht sich der Ausdruck » Siedepunkteimmer auf die Flüssigkeitstemperatur.

Einige der wesentlicheren Daten will ich kurz in Zahlen angeben, sie finden sich in nachfolgender Tabelle.

#### (Siehe Tabelle I auf S. 263.)

Ich bemerke, dass die angewandten Lösungen wie die Destillate jedesmal titrimetrisch untersucht wurden; der negative Druck ist an einem Quecksilbermanometer abgelesen, für die Drucke von 20 mg Hg herum wurde ein kleines Manometer angewandt.

Man vergleiche die 1% Lösungen und deren Destillate für Formaldehyd und Karbolsäure. Sie stimmen bei 100° annähernd überein. Bei 70° erhalten wir durch Destillation des Formaldehyds nur die Hälfte der Konzentration wie bei Karbolsäure. Bei 60° sinkt dieser Wert auf ¼, bei 50° enthält bei Formaldehyd der Dampf fast nur ¼ soviel wie eine unter gleichen Bedingungen verdampfte Karbolsäure.

Tabelle I.

Substanz	Lösung in % ni	Destill. Lösung	Temp.	Druck in mm Hg	Substanz	Lösung in %	Destill. Lösung	Temp.	Druck in
Karbolsäure	1	1,56	100	766	Karbolsäure	6	7,3	100	765
,	1	1,45	75	303	,	6	6,8	77	364
,	1	1,24	48	88	2	6	6,0	55	133
>	1	0,99	28	27		6	4,6	23	18
,	1	0,92	26	12	,		-	-	-
Formaldehyd	1	1,34	100	757	Formaldehyd	2	2,24	100	770
>	1	0,77	88	360	2	2	1,60	85	360
,	1	0,42	57	133	,	2	1,10	70	260
3	1	0,12	23	16	,	2	0,72	51	100
>	-	-			,	2	0,50	37	46
Formaldehyd	8	8,50	17	765	Formaldehyd	16	15,0	96	753
,	8	5,30	78	360	3	16	10,5	75	330
	8	2,80	54	113	,	16	5,4	49	92
,	8	2,0	23	17	,	16	4,4	24	17

Diese wenigen Angaben mögen den Beweis der Notwendigkeit der eben mitgeteilten Untersuchungen dartun. Ohne genaue Untersuchungen aller physikalischen Bedingungen ist eine brauchbare Desinfektionsmethode unmöglich. Man kann nicht beliebige Konzentrationen verdampfender Lösungen, wechselnden Druck, verschiedene Destillationszeiten anwenden, wie das bisher geschehen ist, ohne den Effekt der Dämpfe grundlegend zu verändern.

Aus den graphischen Darstellungen wird man mit Leichtigkeit sich nach den Bedürfnissen, die nötigen Unterlagen für Experimente entnehmen können; es ist kaum anzunehmen, daß schon jetzt an Stelle der interpolierten Kurven ein noch exakteres Zahlenbedürfnis erscheint. Ich glaube, vorläufig lassen sich die für die Desinfektion wichtigen Schlußfolgerungen auch auf Grund des vorliegenden Materials ziehen.

# Konzentration des Destillates 6 proz. Karbolsäure bei verschiedenen Temperaturen (Drucken).

Es wurden jedesmal 100 ccm von 300 ccm abdestilliert.

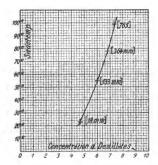


Fig. 5.

### 1 proz. Karbolskure.

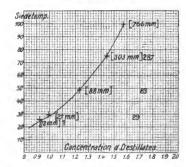


Fig. 6.

### Konzentration der Destillate einer 16 proz. Formaldehydlösung.

Es wurden je 100 ccm von 300 ccm abdestilliert.

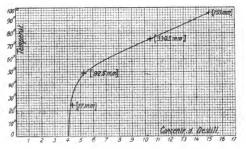


Fig. 7.

## Sproz. Formaldehydlösung.

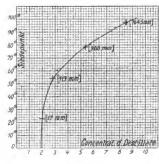


Fig. 8.

### Konzentration der Destillate einer 2 proz. Formaldehydlösung.

Von 300 ccm wurden je 100 ccm überdestilliert.

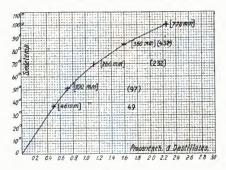


Fig. 9.

### 1 proz. Formaldehydlösung.

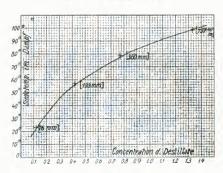


Fig. 10

Aus Zahlen und Kurven scheint eine gesetzmäßige Beziehung zwischen negativem Druck und Konzentrationsänderung der Destillation sich zu ergeben; genaueres auszusagen scheint aber nicht möglich. Den Zahlen muß aber noch ein Fehler anhaften. Da ich stets von dem Volumen von 300 ccm 100 ccm abdestillieren liefs, so ist die wahre mittlere Konzentration nicht 1, 2, 6,  $16\,^o|_o$ , wie aus dem Anfangsgehalt zu schließen, und angeführt ist, sondern eine andere.

Gehen wir von der 16 proz. Lösung aus, so enthielt der Kolben zu Anfang (300 ccm) = 48 g Formaldehyd, davon destillierten ab 100 ccm einer 15 proz. Lösung = 15 g, so daß die 200 ccm, die in dem Kolben verblieben, noch enthielten 48—15 = 33 g = 16,5 proz. Lösung zu Anfang; 16,2 Mittel = 16,25. Bei 87 mm Druck wurde gefunden im Destillat 4,4% Formaldehyd, die restierende Masse (= 200%) hatte 48,0-4,4=43,6 g Formaldehyd = 21,8%. Das Mittel war also  $\frac{16}{9}+\frac{21,8}{9}=18,9\%$ .

In dieser Weise lassen sich die direkten Ergebnisse der Tab. I also leicht umrechnen.

Karbolsäure Formaldehyd Formaldehyd Formaldehyd 0,86 1,56 5,67 7,3 0,91 1.34 1.94 2.24 7.85 8,50 16,25 15,0 0,88 1,45 5,80 6,8 1,06 0,77 2,10 1,60 8.67 5,30 17,68 10,5 0.94 1.24 6.00 6,00 1,14 0,42 2,20 1,10 9,30 2,80 18,65 5,4 0,99 6,35 2.00 1,00 4,60 1,22 0,12 2,32 0.72 9.5 18,90 2,37 1,02 0,50

Tabelle II

Nach dieser Umrechnung begegnen wir aber dem Übelstand, daß nunmehr die Ausgangskonzentrationen an den einzelnen Reihen nicht mehr  $1^{9}_{l_0}$  oder  $2^{9}_{l_0}$  speziell, sondern von diesen geraden Zahlen abweichende sind.

Da die in Frage kommenden Abweichungen nicht sehr große sind, so kann man mit Berechtigung die Annahme zugrunde legen, daß die Destillatkonzentration sich proportional den Konzentrationen der destillierenden Flüssigkeit ändern. Ich rechne also jede Reihe auf eine gleichbleibende Konzentration, was ja auch der Ausgangsgedanke der Experimente war.

So ist die nachfolgende Zusammenstellung zu Wege gekommen.

Tabelle III.

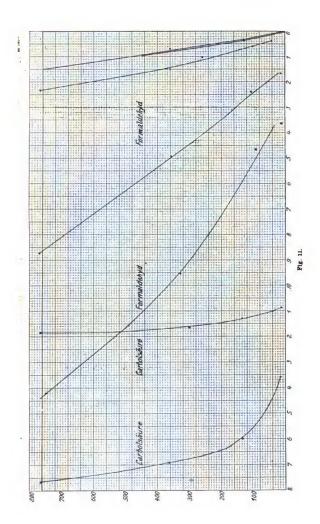
	K	arbo	lsäu	ire						F	orma	ldeh	yd				
9/0		mm	0/0		mm ;	0/0		mm	%		mm	0/0	1	mm	0/0		mn
1,0	1,81	766	6	7,73	765	1	1,47	757	2,0	2,30	770	8	8,66	765	16	14,90	753
1,0	1,65	303	6	7,03	364	1	0,72	360	2,0	1,52	360	8	4,89	360	16	9,50	330
1,0	1,32	88	6	6,00	133	1	0,37	133	2,0	1,00	260	8	2,41	113	16	4,64	92
1,0	0,99	27	6	4,36	18	1	0,10	16	2,0	0,62	100	8	1,68	17	16	3,73	17
1.0	0,90	12	6	_		_	_	-	2.0	0,42	46	_	-	_		-	-

Diese Werte sind jetzt in die Kurve Fig. 11 eingetragen. Als Abszisse nehme ich die Prozente der Konzentration des Destillates bei der gleichbleibenden Konzentration, die in der Tabelle III aufgeführt ist, als Ordinaten aber den Druck.

Die einzelnen Punkte der Tabelle sind Ausdruck einer allmählichen und gesetzmäßigen Änderung, ich habe sie daher durch eine gleichmäßig verlaufende Linie verbunden.

Wenn man die graphische Darstellung der Temperaturen für die einzelnen Lösungen (Fig. 5—10) näher betrachtet, so erkennt man, das bei gewöhnlichem Barometerdruck nur einige Abweichungen vom Siedepunkt des Wassers vorkommen, in dem die 6 proz. Formalinlösung einen niedrigeren Siedepunkt besitzt wie die verdünnteren Lösungen. Aber schon bei dem weiteren Absinken des Druckes verlieren sich diese Differenzen. Es muß demnach zugegeben werden, daß diese eben berührte Zahl für das Destillat des 6 proz. Formaldehyds etwas kleiner ausgefallen sein dürfte, als für Temperaturgleichheit mit den andern Lösungen erwartet werden konnte.

Die Beziehungen der Konzentration des Destillats zur destillierenden Flüssigkeit in Abhängigkeit vom Druck (Fig. 11)



wird am übersichtlichsten, wenn man aus der Kurve für gleiche Druckdifferenzen die Zahlen entnimmt. So findet man:

bei Karbolsaure:

Druck	Konzentration				
	6 %	1%			
760	7,65	1,85			
380	7,00	1,70			
190	6,40	1,45			
95	5,50	1,20			
47	4,75	1,00			

Für Formaldehyd.

Druck		Konzen	tration	
	16%	8 %	2%	1 %
760	14,90	8,60	2,30	1,50
380	10,20	5,20	1,50	0,85
190	7,10	3,35	0,90	0,55
95	5,00	2,45	0,60	0,30
47	4,00	2,00	0,40	0,20.

Was zunächst die Karbolsäure anlangt, so bestehen zweifellos gesetzmäßige Beziehungen zwischen Konzentrationsabnahme und Minderung des Druckes. Wir haben folgende relative Zahlen:

	bei 6°/0	bei 1%
760	100	100
380	91	91
190	84	80
95	72	65
47	62	54.

Die Zahlen fallen also so ab, daß für jede Halbierung des Druckes die Konzentration auf <sup>91</sup>/<sub>100</sub> des vorhergegangenen Wertes sinkt, wir haben durch Rechnung:

760	==	100
380	==	91
190	=	82
95	==	74
47	=	67.

Die gefundenen Werte der Experimente kommen diesen Zahlen ganz nahe.

Für Formaldehyd findet sich:

Mittel	63,9	40,8	27,0	20,1
1 >	100 : 57,7	37,4	20,4	13,8
2 »	100 : 65,2	39,1	26,1	17,3
8 >	100 : 60,5	38,9	28,5	22,9
16%	100:68,7	47,7	33,3	26,8

Die Zahlen fallen hier ab, indem jede Halbierung des Druckes die Konzentration des Destillates um das 0,639 fache herabsetzt.

Am abweichendsten verhält sich die erste Zeile mit den Werten für die 16 proz. Formaldehydlösung aus einem bereits erwähnten Grund. Die Flüssigkeit kam schon bei 95° zum Sieden, bei Erniedrigung des Druckes waren die Unterschiede zwischen den einzelnen Konzentrationen dagegen nicht dieselben. Wir können das Mittel also nur aus den 3 Werten 8%, 2% und 1% bilden und erhalten dann als Relationen:

$$100:61,1\ 38,4:25,0:18,0.$$

Hieraus kann man rechnerisch folgende Verhältnisse ableiten:

$$100:61,1:37,3 \ (61,1\times61,1):22,8 \ (37,3\times61,1):13,9$$
  
 $(22,8\times61,1).$ 

Dies stimmt mit den Mittelzahlen ganz vortrefflich.

Die Gesetzmäßigkeit ist also eine sehr leicht aufzufindende. Die Zahlen für Formaldehyd zeigen wie die der Karbolsäure eine gleichartige Abhängigkeit vom Druck. Die Zahlen nehmen bei gleichmäßig sinkendem Druck ab, wie die Zahlen einer geometrischen Reihe, indem sie sich als Produkte derselben Grundwerte auffassen lassen.

Bei Karbolsäure hat man das Verhältnis:

1,00 : 0,91 : 0,80 = 1,00 : 0,91 : 0,91
$$^2$$
 : 0,91 $^3$  usw.,

wenn der Druck sich verhält wie 1: 1/2: 1/4: 1/8.

Die Luftdruckverminderung liegt also ausgedrückt in dem Exponenten eines Bruches.

Kennt man also für ein bestimmtes Intervall der Konzentrationsabnahme in Abhängigkeit vom Druck, so läfst sich das weitere durch Rechnung finden.

Genau wie für die Karbolsäure liegen die Berechnungen der Zahlen für den Formaldehyd, so dass ich verzichten darf, weiter darauf einzugehen.

Wir sind davon ausgegangen, eine Verstärkung des Desinfektionswerts gesättigten Dampfes bei niedrigen Temperaturen erreichen zu wollen. Die Mittel, welche uns hierzu zur Verfügung stehen, sind wir jetzt in der Lage genau angeben zu können. Ich habe in der nachstehenden Tabelle eingetragen, welche Konzentration der Lösung angewandt und welche Destillate erhalten worden sind, wenn durch Druckerniedrigung der Siedepunkt auf 50° gehalten wird.

Tabelle IV. Bel 50° Siedepunkt werden erhalten:

Substanz	Konzen- tration 1) der Lösung	Konzen- tration 1) des Destillates	Druck in mm
Karbolsäure	6,0 °/。	5,8 °/ <sub>e</sub>	110
	1,0 >	1,25 >	90
Formaldehyd	16 >	5,0 >	90
,	8 .	2,4 >	100
· · · · ·	2 ,	0,6 >	90
	1 .	0.35	70

Wir sehen zunächst für die Karbolsäure, dass wir hier mit der Dampfkonzentration so weit gehen können, wie wir überhaupt nur wünschen können, falls nur die Ausscheidung öliger Tropfen vermieden werden soll.

Beim Formaldehyd erreichen wir niemals die Konzentration der siedenden Lösung, sondern müssen uns mit einer großen Einbusse an wirksamer Substanz zufrieden geben; aber da man doch bis zu 40% Formalinlösung anwenden kann, so würden sich,

<sup>1)</sup> Ohne Berücksichtigung der Volumverminderung beim Destillieren.

wo man es wünschte, auch Dämpfe mit 12-13% Formalin herstellen lassen.

Die Vorbedingungen der Desinfektion bei niedriger Temperatur stehen sonach ganz günstig.

Die Brauchbarkeit der einzelnen Mittel hat sich aber bedeutend gegenüber den Versuchen bei einer Temperatur von 100° verschoben.

Die Wichtigkeit einer direkten Untersuchung des Gehaltes der Dampfdesinfektionsgase wird jedem einleuchteud sein, wenn man bedenkt, daß 1 proz. Lösung Formaldehyd bei  $100^{\circ}$  1,5% als Destillat gibt, bei  $50^{\circ}$  aber nur 0.3%, also in letzterem Falle fast nur 1/51!

Bisher hat man an die Möglichkeit von solchen Unterschieden überhaupt nicht gedacht, sondern ist wie bei einigen der oben berührten Experimente von gleichen Konzentrationen der Flüssigkeiten im Verdampfungsapparat ausgegangen. Wie sich gar der Formaldehyd in einem von Luft- und Wasserdampf gefüllten Raume von niedrigerer Temperatur als das Kesselwasser es ist — einer von Esmarch angewandten Kombination —, verhalten wird, läfst sich auch nicht einmal annähernd angeben, machen doch unter einheitlichen Verhältnissen Druckdifferenzen sich erheblich in der Wirkung geltend.

Bei den bisher betrachteten Desinfektionsmitteln haben wir einen weiten Spielraum für die Variation von Temperatur- und Dampfkonzentration. Es sind auch relativ recht beständige Stoffe vom chemischen Standpunkte.

Es gibt aber auch Desinfektionsmittel, welche einen viel engeren Kreis der Wirksamkeit haben und doch in meinem Sinne bei kombinierten Desinfektionen geeignete Verwendung finden können. Ich nenne nur das Wasserstoffsuperoxyd.

(Siehe Tabelle V auf S. 274.)

Wie die Tabelle zeigt, geben die verdünnten Lösungen von  $2^{\circ}$ 0 unter keiner Bedingung Dämpfe von stärkerem  $H_2$  O $_2$ -Gehalt. Auch das Durchblasen von Wasserdampf durch eine heiße Lösung zeigt keinen großen Gewinn in  $H_2$  O $_2$  in den Dämpfen.

### 274 Die wissenschaftlichen Grundlagen einer Desinfektion etc.

Erheblich gestiegen ist der Zuwachs an wirksamer Substanz bei 20% unter vergleichbaren Verhältnissen; ich habe daher auch noch ein paar Versuche mit noch größerer Konzentration aufführen lassen, wobei sich ergab:

Ursprüngl. Konz. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Druck	Siedetemp.	Konzentr. d. Destillats
49,2%	373  mm	870	6,28% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
37 %	27 mm	310	2,8%

Tabelle V. Konzentration der Destillate wäßrigen Wasserstoffsuperoxyds.

Ursprüngl. Konzentrat.	Druck	Siede-	Konzentration des			
	Druck	temperatur	Rückstandes	Destillates		
	757,5 mm	99 0	1,98	0,04		
	379	80°	2,47	0,06		
	17 >	27 °	- 1	0,09		
5,2	17 mm	27 °	7,70	0,20		
20,0	94,7 mm	51,6 0	29,56	0,87		
	189,4 >	67,4 0	-	0,92		
	378,8 >	84,60	- 1	0,91		
2,92	Wasserdam	pfdestillation		0,09		

Wie man aus der geringen Konzentration des Destillates mit Bezug auf die destillierende Lösung bemerkt, steigt die Konzentration der letzteren während der Experimente. Dies gilt nicht für die Lösungen geringen %-Gehaltes, bei diesen wurde  $H_2O_2$  fortwährend zersetzt.

Wasserstoffsuperoxyd kann also, wenn man von dem Preise absieht, unter geeigneten Umständen als Desinfektionsmittel in gasförmiger Form mit in Betracht gezogen werden; denn konzentriertere Lösungen liefern Dämpfe von hohem Gehalt an wirksamer Substanz.

Alles zusammen betrachtet, verfügen wir für Desinfektionszwecke über flüchtige Mittel hoher Konzentration von zweifellos außerordentlich großer Wirksamkeit (s. o.).

Die Benutzung der flüchtigen Desinfektionsmittel läfst sich auch hier technisch so regeln, daße ein nennenswerter Verlust an Material gar nicht eintritt, weil man ja die kondensierten Dämpfe ohne weiters wieder in den Kessel zurückführen kann. Der Gehalt an wirksamer Substanz kann demgemäß so gut wie konstant gehalten werden.

## IV. Das Durchblasen von Wasserdampf.

Von den verschiedenen Formen der Herstellung von Desinfektionsgasen bietet namentlich die Verdampfung im partiellem Vakuum große Vorteile wegen der Regulierung der Temperatur, welche die letztere jeder Aufgabe sich anzupassen gestattet.

Der Vollständigkeit halber will ich aber zum Schluss noch auf eine andere Anordnung der Versuche, die ich schon vor Jahren benutzt habe, eingehen.

Die Darstellungsweise von Wasserdampf und flüchtigen Desinfektionsmitteln braucht nicht nur in der hier geübten Form zu geschehen; es ist auch das Durchblasen von Wasserdampf durch Flüssigkeiten, deren Temperatur unterhalb des Siedepunktes des Wassers liegt, ein namentlich in der Industrie viel geübtes, in Betracht zu ziehendes Verfahren.

Zur Ausführung des Experiments ist zwischen Dampfentwickler und Desinfektionsraum ein kleiner Kessel eingeschaltet, der auf beliebige Temperatur geheizt und reguliert werden kann.

Es war das dieselbe Anordnung, die zuerst, auf meinen Vorschlag hin, E. Mayer benutzt hat.

Die quantitativen Wirkungen dieser Verdampfungsweise kennt man noch wenig, sie müssen also auch wieder für die Spezialfälle geprüft werden.

Leitet man Wasserdampf in heiße, sich nicht mit Wasser mischende Flüssigkeiten, so wird mechanisch davon mitgerissen. Die Anwendungsweise des luftverdünnten Raumes erweist sich dabei besonders vorteilhaft. 1)

13-15 kg Dampf reißen mit z. B. 100 kg Toluol,

150 > > > 100 > Teer,

100 » » • 100 » Fettsäure,

also sehr erhebliche Mengen von Stoffen.

<sup>1)</sup> Hausbrand, Verdampfung. Berlin, Springer, 1899, S. 19.

Der Weg einer solcher Verdampfung erscheint also ein sehr aussichtsreicher, indem die Masse der verflüchtigten Produkte eine sehr bedeutende ist.

Ich habe zuerst die gewöhnliche Formalinlösung einer solchen Destillation durch strömendem Dampf unterziehen lassen und wurden dabei die nachstehenden Zahlen erhalten:

Tabelle VI.

Dampfdestillation von Formalin.

					cem	Konzentra- tion
Angewandt	e ]	Lös	un	g	850	42,58 %
Rückstand					860	25,86 >
1. Destillat					100	29,53 >
2.					100	_
3.					100	28,78 >
4. ,					100	_
5. >					100	25,18 >

Der Effekt ist ein ganz eklatanter. Der Gehalt an Formaldehyd ist von Anfang an im Destillat ein sehr großer und sinkt im weiteren Verlauf der Destillation nur sehr langsam, Eigentümlichkeiten, die wir sehr hoch bewerten müssen.

Da die für die Praxis nötige Tötungskraft, wie schon die orientierenden Versuche gezeigt haben, wenig mehr als  $0.35\,\%$  Formaldehyd nötig macht, so dürfte wahrscheinlich nur selten der Fall eintreten, ein so hochgradig angereichertes Dampfgemenge zu besitzen.

Die geringeren Konzentrationen habe ich vorläufig nicht prüfen lassen, da die technischen Einrichtungen meines Versuchsapparates auch die Benutzung des Kessels als Verdampfer für das Desinfiziens gestatten.

Vorliegende Versuche sollten also nur ein Beispiel von solcher Anwendung geben; zumal nicht nur die Konzentration, sondern auch der Druck und das durchgeblasene Dampfvolumen wichtige Variable darstellen Ein analoger Versuch wurde mit der rohen Karbolsäure angestellt. Der Karbolsäuregehalt des Destillates erreichte fast 10% und sank, wie bei Formaldehyd, allmählich ab.

Tabelle VII.								
Dampfdestillation	der	rohen	Ka	rbolsk	ure.			
P P		ii ii	-		_			

Bezeichnung					in g oder	Gehalt an Karbolsäure		
					cem	in g	in %	
Rohe Karbolsäure .				re	800 g	625,6 g	78,2 %	
I. D	estilla	t.			100 ccm	9,77 >	9,77 >	
Π.					100 →	_	_	
III.	,				100 >	8,40 >	8,40 >	
IV.	,				100 •	_	_	
v.					100 ,	7,62 >	7,62	
Rückstand			915 g	582,85	68,70 >			

Zweifellos waren die Destillate chemisch nicht ganz die gleichen und also wahrscheinlich auch von verschiedener biologischer Wirksamkeit. Mit dem ersten Destillat ging ein Ol mit einem Geruch nach Fichtennadeln mit über, bei den späteren Destillaten war der typische Phenolgeruch vorhanden.

Das Ausblasen mit Dampf kann bei Produkten, wie die rohe Karbolsäure eines ist, den Vorteil haben, aus einem unreinen, billigen Material in einem Akte der Behandlung eine wirksame Substanz abzuscheiden und in den Dampfstrom zu bringen.

Die Versuchsbedingungen waren vielleicht nicht ganz dieselben wie bei dem Formaldehyd, obschon möglichst gleiche Dampfmengen durchgeleitet wurden (gleiche Destillate in gleichen Zeiten). Wir sehen bei der Karbolsäure eine weit geringere (durch die Natur der Substanz bedingte) Konzentration im Destillat.

Für die Benutzung von Wasserstoffsuperoxyd hat sich wenigstens in einigen orientierenden Versuchen das Durchblasen von Dampf aus naheliegenden Gründen nicht verwendbar erwiesen.

Es kann weiteren Versuchen überlassen werden, andere Mittel der Desinfektion noch mit heranzuziehen, um ihre Brauchbarkeit zu prüfen und die einzelnen Bedingungen für die Gewinnung rationeller Konzentration der destillierenden Dämpfe festzustellen.

So günstig auf den ersten Blick das Ausblasen von Desinfektionsmitteln durch Dampf erscheinen mag, so bestehen für die Anwendung insofern einige Schwierigkeiten, als die Rückführung der kondensierten Flüssigkeiten in den Verdampferkessel¹) dessen %-Gehalt an wirksamen Substanzen vermindern würde, also unzulässig ist. Die Rückleitung der kondensierten Flüssigkeit in den Kessel²) nach der früheren Methode bietet einfachere und gleichbleibendere Bedingungen.

Wenn ich auch bei meinen ersten Experimenten diese Anordnung der Dampfdurchblasung für die aussichtsreichere gehalten habe, so zeigte sich doch, daß die einfache Verdampfung aus dem Kessel ihre unzweifelhaften Vorzüge besitzt.

Durch die vorliegenden Untersuchungen ist bewiesen, daß man auch bei Anwendung von niederen Dampftemperaturen eine reichliche, genügende Entwicklung von desinfizierenden Gasen erreichen kann und dargelegt, unter welchen konkreten Verhältnissen dies geschieht.

Wie sehon früher hervorgehoben, wird dabei eine Herabsetzung des Penetrationsvermögens des Dampfes nicht eintreten.

Die Erwärmungsgeschwindigkeit dürfte auch von reinem Dampf kaum abweichen; für diejenigen Stoffe, für welche hygroskopische Eigenschaften nicht in Frage kommen, wird ohnedies die Kondensation verlaufen wie im reinen Dampf. Wenn aber hygroskopische Anziehung überwiegt, so würde diese zwar mit Notwendigkeit nicht auch den flüchtigen Desinfektionsstoff anziehen, aber mit Beseitigung des Wasserdampfes diesen ohne weiters mit zur Ausscheidung bringen.

Die Kondensationswärme ist für die hier in Frage kommenden Körper nicht näher bekannt, aber nach alledem, was

<sup>1)</sup> Nicht den eigentlichen Dampfkessel.

<sup>2)</sup> Den eigentlichen Dampfentwickler.

wir sonst über diese Vorgänge wissen, anzunehmen, dass dieselbe ganz erheblich hinter der Kondensationswärme des Wasserdampses zurückbleibt auch dann, wenn die Abscheidung in sestem Zustand wie bei Formaldehyd bedingungsweise zugestanden werden mußte. Neben der einfachen Kondensation kommen allerdings noch spezifische Anziehungen von Desinsektionsmitteln, wie ich zuerst bewiesen, in Betracht.

Die Verwendung von gesättigten Wasserdämpfen zusammen mit flüchtigen Desinfektionsmitteln ist eine wichtige und aussichtsvolle Desinfektionsmethode. Ich hoffe in kurzer Zeit von anderer Seite über die weiteren Fragen der Tötungskraft, die bisher nur gestreift worden ist, berichten lassen zu können<sup>1</sup>), deren Resultate entscheiden werden, welchem der Mittel unter verschiedenen Umständen der Vorzug zu geben sein dürfte. Die flüchtigen Desinfektionsmittel erlauben die Anwendung so niedriger Dampftemperaturen, dass dadurch für die Desinfektion ein außerordentlich weites Feld ihrer Anwendung geschaffen wird.

<sup>1)</sup> Ich behalte mir die Bearbeitung dieser Frage vor.

# Die experimentelle Herabsetzung der Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus.

Von

### Dr. Albert Hirschbruch.

(Reinickendorf.)

(Aus dem Kgl. Hygienischen Institut in Posen.)

In der ersten Zeit nach der Entdeckung von Gruber und Durham, dass das Serum von Typhusrekonvaleszenten den Eberthschen Bazillus agglutiniert und der unsere Kenntniserweiternden Mitteilung Widals vom Auftreten dieser Eigenschaft im Blutserum während der Krankheit selbst, glaubte man, dass ein und dasselbe Serum alle Typhusstämme gleich stark, d. h. bis zu demselben Grade der Serumverdünnung agglutiniert. Dann machten einige Forscher die Mitteilung, dass sie hin und wieder Typhusbazillen gezüchtet haben, die ansangs nicht agglutinierbar waren, aber nach mehr minder langer Umzüchtung diese Eigenschaft erlangten, während andere Untersucher auch Stämme mit erhöhter Empfindlichkeit für Agglutinin fanden.

Bisher hat sich aber noch immer, wenn man einen Typhusstamm lange genug studierte, welcher der Agglutinierbarkeit anfangs ganz oder teilweise entbehrte, diese Eigenschaft mit der Zeit eingestellt.

Die ersten Beobachter dieser Varietät für Agglutinin minder sensibler Typhusstämme waren Achard und Bensaude, denen sich Widal und Sicard anschlossen. Die letzteren hatten derartige Stämme sowohl aus dem Körper des Kranken wie aus Wasser gezüchtet. Gleichzeitig mit ihnen hat Kolle eine gleich-

artige Mitteilung gemacht. Van de Velde, Johnston und Mac Taggart, sowie viele andere bestätigten diese Mitteilungen. Da wir im Laboratorium meist mit Immunagglutininen arbeiten, wäre die Annahme immerhin möglich, dass die Eigenschaft der Agglutinierbarkeit den Typhusbazillen vielleicht nicht abhanden gekommen ist, sondern daß sie nur eine Änderung derart erlitten haben, daß die mit Normalstämmen erzeugten Sera mit diesen abnormen Stämmen nicht in Reaktion treten können. Unter Wassermanns Leitung hat Cole diese Möglichkeit als unzutreffend nachgewiesen, indem er zeigte, daß das mit minder agglutinierbaren Stämmen durch Immunisierung von Kaninchen erzielte Serum den eigenen Stamm ebenfalls weniger hoch agglutiniert als einen normal empfindlichen Vergleichsstamm.

Eberthsche Bazillen mit herabgesetzter Agglutinationsfähigkeit wurden außer aus den Dejektionen von Kranken, aus der Milz von Gestorbenen und aus Wasser von Bancel dreimal aus Eiter (Milzabszefs, Humerusperiostitis, Osteomyclitis des Femur) gezüchtet. Bei den Typhusbazillen aus Leichenmilzen bestehen kleinere Unterschiede in der Agglutinierbarkeit zwischen den einzelnen Kolonien; im übrigen findet man die Abschwächung der aus Milzen gezüchteten Stämme nicht regelmäßig, sondern nur in einer gewissen Anzahl der Fälle, Nicolle et Trenel. Übereinstimmend mit anderen haben diese Autoren gefunden, daß solche Stämme regelmäßig und meist schon nach wenigen Umzüchtungen die volle Höhe der Agglutinierbarkeit erhalten. Nur bei den Bancelschen Stämmen ist eine durch 6-11 Monate durchgeführte Fortzüchtung erforderlich gewesen.

Häufig soll aber auch schon einfaches Alternlassen der Kultur die Agglutinationsfähigkeit wiederherstellen. Rémy hat einen Stamm aus Wasser gezüchtet, der dadurch nach 3 Monaten normalen Titer ergab.

Eine Doppelwirkung von Überimpfung und Alternlassen ergibt sich aus folgendem Versuch:

Die 1. Impfung auf Bouillonagar aus einem 5 Monate alten Stich von Typhus in Traubenzuckeragar zeigt den höchsten Titer 1:5000 (gegenüber einem Serum vom Titer 1:15000). Die 3. Agargeneration reagiert zunächst auch nicht höher; nachdem das Röhrchen aber einen Tag bei Zimmertemperatur gehalten worden war, ist der Titer auf 1:10000 gestiegen. Die folgende Verimpfung reagiert bei 20 Stunden alter Kultur normal bis 1:15000.

In einem andern Falle, der weiter unten noch ausführlich beschrieben werden soll, war einem normal reagierenden Typhusstamm die Agglutinierbarkeit bis auf 1:100 geraubt worden Die tägliche Überimpfung auf Agar durch 20 Generationen hindurch ist nicht imstande gewesen, die Kultur höher agglutinierbar zu machen. Das 20. Röhrchen wurde dann 11 Tage bei Zimmertemperatur gehalten und reagierte nachher bis 1:5000; zur Prüfung wurde hier also eine 12 Tage alte Kultur benutzt. Nun ist es sehr interessant, daß die 1. Abimpfung aus diesem 20. Röhrchen den Titer nicht zu halten vermochte; er sank wieder auf 1:1000 ab. Immerhin ist hier durch einfaches Alternlassen eine dauernde Steigerung des Titers eingetreten, was um so bemerkenswerter ist, als diese Steigerung durch tägliche Weiterimpfung sich nicht hat erzielen lassen.

In zahlreichen anderen Fällen ist es mir aber gelungen, normalen Titer schon in der 1. oder 2. Impfung zu erzielen. Ebenso hat auch das Alternlassen mich wiederholt im Stiche gelassen. Auf diese Möglichkeit muß man gefaßt sein, weil das Alter nicht immer restituierend auf den die Agglutination vermittelnden Anteil des Bakterienleibs - »Rezeptoren« nach Ehrlich - wirkt, sondern mitunter auch erschöpfend und zerstörend. Malvoz alte Typhuskulturen inagglutinabel; ebenso fand Nicolle cine 1 Monat alte Kultur, die er mit viel Wasser ausgewaschen hat, fast oder ganz inagglutinabel. Eisenberg und Volk dagegen haben bei einer der Nicolleschen ähnlichen Versuchsanordnung keine Verringerung des Titers erhalten. Auch Nicolle und Trenel haben in einem Falle, bei dem sie eine 4 Jahre alte Typhuskultur in Bouillon impften normalen Titer gefunden. Es scheinen in der Tat irgendwelche Umstände bei der Wirkung des Alterns, die Agglutinierbarkeit fördernd oder hemmend, mit-

zusprechen, die sich augenblicklich unserer Kontrolle entziehen, mögen es nun Unterschiede des Nährbodens, des Stammes, gleichbleibende oder wechselnde Temperatur des Zimmers, oder mögen es noch andere Einflüsse sein. In mehreren Fällen konnte ich ein mäßiges Absinken des Titers - von 1:10000 auf 1:5000 in alten Kulturen beobachten. Bei der 1. oder 2. Weiterimpfung stellte sich der Titer wieder normal. Bei dem Grenzwerte von 5000 war hier die Agglutination nur sehr gering, dagegen starke Präzipitatbildung. Das ist ein Analogon für die von vielen Seiten gemachte Angabe, dass auch das Filtrat von Typhuskulturen, besonders von alten, agglutinogen ist. Die Erscheinung ist nicht anders zu erklären als durch den Austritt der Rezeptoren aus dem Ganzen des Bakterienleibs und findet ihren experimentellen Abschluss in den von Wassermann mit Erfolg durchgeführten Absorptionsversuchen von Agglutinin mit Kulturfiltraten. Wassermann hat aber auch noch ermittelt, daß eine unverhältnismäßig große Menge Kulturfiltrat zur Bindung eines Agglutininquantums nötig ist. Er schließt auf die Identität von Agglutinin und Präzipitin oder - was dasselbe ist - auf die Gleichheit der entsprechenden Rezeptoren. Wenn aber die präzipitable Substanz nichts anderes ist als die aus dem Bakterienleibe ausgetretene agglutinable Substanz, so darf uns die geringe Verminderung des Agglutinationstiters bei gleich-Auftreten reichlicher präzipitabler Substanz nicht wundernehmen. Der Verlust des agglutinablen Grenztiters durch das Altern ist vermutlich die Folge des Austritts von agglutinierbarer Substanz aus der Zelle. Ob dabei eine Rezeptorenneubildung stattfindet und der Endeffekt - Erhöhung oder Verminderung des Titers - nur die rechnerische Bilanz beider ist. läßt sich so lange nicht mit Bestimmtheit sagen, als wir nicht wissen, in welchem Verhältnis eine bestimmte Menge agglutinierbarer Substanz in der Zelle und außerhalb Agglutinin absorbiert, und ferner, ob dieses Verhältnis konstant ist. Das Vorkommen, sowohl von Titersteigerung, wie von Erniedrigung, spricht entschieden für die zwei nebeneinander hergehenden Prozesse: Rezeptorenneubildung und Rezeptorenaustritt.

### 284 Experimentelle Herabsetzung d. Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus.

Ganz anderer Natur als dieser Austritt von vorhandenen Rezeptoren ist die mangelnde Bildung infolge einer Art Inaktivitätsatrophie. Diese Erschöpfung habe ich ein paar Mal bei raschen und zahlreichen Umzüchtungen auftreten sehen, besonders, wenn zweimal täglich die Impfung vorgenommeu wird. Eine 5 Monate alte Agarkultur wurde mit Peptonwasser übergossen, 24 Stunden im Brutschrank gehalten und dann auf Agar verimpft. Die eintägige Kultur wurde durch ein Serum vom Titer 1:15000 bis 5000 agglutiniert, die nächste Agarimpfung bis 1:10000, die folgende ebenso hoch, die 4. Impfung aber war bis 1000 abgefallen.

Ein anderes Beispiel! Eine Kultur wurde 5-6 Monate hindurch täglich mindestens einmal, an einigen Tagen zweimal abgestochen. Der Titer hatte sich während der ganzen Zeit normal gehalten. Plötzlich liefs die Agglutinierbarkeit nach und ging von starker Reaktion bei 1:15000 herab auf:

100	1000	1 5000	1 10000	1 15000
+++	+	+	_	_

Der Kontrollversuch, angestellt mit demselben Serum und demselben Stamm, bei dem aber die Weiterimpfung oft durch mehrtägige Pausen unterbrochen war, gab normale Höhe des Titers (1:15000). Das Originalröhrchen der Varietät mit verringerter Agglutinierbarkeit wurde 15 Tage bei Zimmertemperatur gehalten. Die Bakterien hatten dann auch die Agglutinierbarkeit durch die Verdünnung 1:5000 verloren. Die erste Abimpfung von diesem Röhrchen ergab bereits wieder:

	100	1000	1 5000	10000	15000	2000
Kontrolle	+++	++	++++	++++	+++	

Es sei hier bemerkt, daß sämtliche Prüfungen makroskopisch vorgenommen wurden; die benutzte Kochsalzlösung war 0,85 proz.; für sämtliche Untersuchungen wurde stets dieselbe Öse von 2 mg Inhalt benutzt; die Untersuchung wurde nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank und darnach <sup>1</sup>/<sub>4</sub>stündigem Stehen im Zimmer mit bloßem Auge vorgenommen.

Wenn die Krausschen Präzipitine und die Agglutinine identisch, sowie anderseits die entsprechenden bindungsfähigen Substanzen im Bakterienkörper und Kulturmedium identisch sind. wenn also die agglutinablen Substanzen aus den Bakterien heraustreten können, dann ist eine natürliche Folge, daß es auch Mittel und Wege geben muß, sie aus den Bakterien künstlich zu entfernen. Schon vor der Ermittelung genügend zahlreicher Tatsachen, die uns auf theoretischer Grundlage diese Möglichkeit wahrscheinlich machen konnten, hat es Malvoz verstanden. Typhusbazillen durch Auswaschen mit großer Wassermenge im Chamberlandfilter für spezifisches Immunserum inagglutinabel zu machen. Diese Angabe wurde von Nicolle und von Harrison bestätigt. Im Gegensatz hierzu steht der zweifellos richtige Anteil der Duboisschen Ergebnisse. Er hat mit gewaschenen und erhitzten (115°) Blutkörperchen vom Huhn ein Serum erzielt. das agglutiniert, doch nicht präzipitiert; während die Tierimpfung mit gewaschenen, aber nicht erhitzten Blutkörperchen Agglutininwie Prazipitinbildung veranlasst, Dubois wundert sich selbst darüber, dass die gewaschenen Blutkörperchen im Gegensatz zu den Beobachtungen anderer Autoren Präzipitine erzeugt haben. Das Wunderbare liegt ebensosehr darin, daß sie trotz Waschens noch Agglutinine erzeugen konnten; vermutlich hat Dubois durch das Waschen die agglutinable Substanz nicht gründlich genug entfernt. Nach Wassermanns oben mitgeteiltem Versuch muß ein agglutinierendes Serum auch Präzipitatbildung veranlassen, wenn nur präzipitable Substanz vorhanden ist. Ist die Tatsache auch nur für Bakterien bewiesen, so ist es bei der allgemein großen Analogie sehr wahrscheinlich, daß auch zwischen den Hämagglutininen und den Blut-Präzipitinen dasselbe Verhältnis mafsgebend ist.

Beim Auswaschen der agglutinablen Substanz ist ein physikalisch chemischer Faktor zur Geltung gekommen, der auf von vornherein normal agglutinierbare Typhusbazillen eingewirkt und ganzen oder mindestens teilweisen Verlust der Agglutinierbarkeit bewirkt hat. Derartige Versuche sind zunächst für die
Theorie, mittelbar aber auch für die Praxis wichtig genug; auch
die Möglichkeit, dass die aus dem Wasser gezüchteten Stämme
anfangs durch die ständige Auslaugung der agglutinablen Substanz bei geringerem exosmotischen Druck unternormal agglutinierbar sind. Jäst sich nicht von der Hand weisen.

Bei der zurzeit leider noch nicht häufigen Auffindung des Typhusbazillus, selbst in solchem Wasser, das zweifellos infiziert sein muß, wendet sich unser Augenmerk unwillkürlich denjenigen Fällen zu, wo aus den Dejektionen des Kranken Bakterien gezüchtet werden, die morphologisch, kulturell und chemisch nur Ebertlische Bazillen sein können, sich gegen ein hochwertig agglutinierendes Serum aber in dem Maße ablehnend verhalten, dass bei jedem neuen derartigen Falle immer wieder Zweisel an der Echtheit entstehen, bis nach ein- oder mehrmaliger Übertragung auf Agar die fehlende Agglutinierbarkeit sich einstellt. Derartige Fälle sind, wie jeder Bakteriologe aus Erfahrung weiß, nichts weniger als eine Seltenheit. Wenn wir auch beim Aufsuchen der Umstände, die zu dieser Abweichung von der Regel führen, nicht das ganze Heer der im Körper des Kranken möglicherweise an der Wirkung kombiniert beteiligten Faktoren experimentell einzeln oder gar vereint heranziehen wollen und können, so ist doch der Einfluss dieses oder jenes Umstandes schon studiert worden. In erster Linie ist wohl die von der normalen Körperwärme wie von der Brutschranktemperatur abweichende Fieberhitze - also ein rein physikalisches Moment zu nennen, die der Beachtung und experimentellen Prüfung wert erscheint.

Die ersten Versuche nach dieser Richtung wurden von Nicolle und Trenel angestellt. Zunächst stellten sie fest, daß sich der Typhusbazillus bei 42° auf festen Nährböden und in Peptonwasser nicht in für die Agglutination brauchbarer Art entwickelt; daß wenig über 42° kein sichtbares Wachstum mehr vorhanden ist; daß bei 42° aber ausreichendes Wachstum in Bouillon erfolgt unter der Voraussetzung, daß alle 1—2 Tage

abgestochen wird, weil die Überimpfung nach 3—4 Tagen steril bleibt. Er hat deshalb bei 42° gewachsene Bouillonkulturen geprüft und 2 Typhusstämme benutzt.

Stamm 1. Die Kultur im 15. Röhrchen wurde von einem Serum mit dem Titer 1000 in der Verdünnung 1:10 nur schwach agglutiniert. Die Temperatur im Wärmeschrank sank dann auf 40°. Die Folge davon war, daß die 19. Abimpfung bis 1:100 reagierte. Die Wiederherstellung der Temperatur (42°) und lange Fortzüchtung ergab dann im 54 Röhrchen eine Kultur, die von einem bis 3000 wirksamen Serum nur 1:10 agglutiniert wurde.

Stamm 2 wurde mit demselben Serum vom Titer 3000 geprüft. Die Reaktionsgrenzen waren beim 1. Röhrchen 1:100, beim 2.1:10, bei der 23. Überimpfung ebenfalls 1:10.

Die lange Fortzüchtung — bis zum 54. Röhrchen — gibt deswegen kein rein zur Beurteilung der Wärmewirkung verwertbares Bild, weil die Erschöpfung der Rezeptorenproduktivität schon mit hineinspielt. Sie erobert sich aber ihren vollen Wert durch die Angaben über Stamm 2. Schon das 1. Röhrchen zeigt eine erhebliche und praktisch wichtige Verminderung der Agglutinierbarkeit, die im 2. Röhrchen ihre Höhe erreicht und bei zahlreichen Weiterimpfungen konstant bleibt.

Die Angaben der Autoren wurden bald von Lesieur bestätigt. Kirstein, der sich mit speziellen Studien ∍über Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien, insbesondere von Typhusbazillen∢ beschäftigte, hat bei Züchtung in Bouillon unter Luft und unter Wasserstoff zwischen den bei 37° und 43° gewachsenen Kulturen bei Prüfung mit einem Serum vom Titer 1500 keinen Unterschied in der Agglutinierbarkeit gefunden. Auch Craw fand Typhuskulturen, die bei 37° und 42° gewachsen waren, in gleichem Maſse agglutinabel, obwohl die letzteren ihre Beweglichkeit ganz abgelegt hatten. (Der letzte Umstand würde gegen die Malvozsche und der neueren französischen Autoren, denen sich Baum garten in gewissem Sinne anschlieſst, Meinung sprechen, daſs die Agglutinierbarkeit des Typhusbazillus in Beziehung zur Intaktheit des Geiſselapparates steht.)

Aus diesen einander widersprechenden Angaben war ohne genaue experimentelle Prüfung kein Schlufs zu ziehen.

Der Stamm, mit dem die nachstehenden Untersuchungen angestellt wurden, stammt — soweit nicht etwas Besonderes angegeben wird — aus dem Stuhl einer fieberfreien Typhusrekonvaleszentin H. und ist während der Typhusepidemie in Gnesen im Juli 1904 von mir gewonnen worden. Der Stuhl enthielt damals je 11 Typhusbazillen auf 9 Kolibakterien. Das Serum verdanke ich — sofern ich nichts Anderes darüber berichte — der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Kolle. ++++ bedeutet völlige Agglutination bis zur Klärung, +++ Bildung großer Haufen, +++ mittelstarke, + feine Haufen.

2 Agarröhrchen werden aus demselben Röhrchen (Typh. H.) beimpft; das eine wird bei 37°, das andere bei 42° gehalten. Untersuchung nach 18 Stunden:

		1000	5000	10000
37° Kultur		1+++	+++	+
42° Kultur		+++	- 1	_

Nachdem einmal die Erniedrigung der Agglutinierbarkeit in diesem Vorversuch gelungen war, konnte die Angelegenheit systematisch untersucht werden.

Zunächst hat festgestellt werden können, daß auch die bei Typhuskranken oft vorkommende Temperatur von 40—41° imstande ist, den passiven Titer des bei dieser Temperatur gezüchteten Stammes von 1:10000 Serumverdünnung auf 1000 herabzudrücken.

Dann war es interessant, die Kultur durch einige Generationen bei gleichbleibenden Bedingungen zu verfolgen. Die 2. Generation wurde bis 1:5000 agglutiniert, die 3. nur wieder bis 1000, die 4. reagierte normal bis zur Serumverdünnung 10000, die 5. wieder nur bis 1000. Nachdem unter Schwankungen die Kultur sich allmäblich an die hohe Temperatur gewöhnt hatte, trat bei der täglichen Fortzüchtung eine Erschöpfung der Rezeptorenbildung ein.

Es wird weiter unten noch gezeigt werden, daß die Erniedrigung des agglutinierenden Bakterientiters tatsächlich mit Rezeptorenverminderung zusammenfällt.

Die 3 Tage lang bei 40—41° gezüchtete Kultur besitzt wie die eintägige den Titer 1000.

Diese Schwankungen sind nicht konstant. Bei einer Wiederholung des Versuchs blieb der Grenzwert vom 1. bis zum 8. Röhrchen unverändert 1:1000 +++. Bei 42° war der Titer des 1. Röhrchens, wie wir schon gesehen haben, ebenso. Bei 43° war der Grenzwert 1:1000 ++; das 2. Röhrchen bei 43° zeigte kein Wachstum. 44° hatten die gleiche Wirkung.

Wie sehr äußere Umstände das Untersuchungsergebnis ändern können, geht daraus hervor, daß auf einem neuhergestellten Agar der Typhus nicht nur bei 45° wuchs, sondern auch bis zur 7. Generation verfolgt werden konnte. Der Titer war von der 1. bis zur letzten Generation nur bis 5000 zurückgegangen. — Eine Wiederholung des Versuchs ergab folgende Grenzwerte: 1. Röhrchen 5000 ++++. 2. Röhrchen 1000 ++++. 5000 +? 3. Röhrchen 1000 ++++. 4. Röhrchen ebenso. Vom 5. Röhrchen ab stellte sich eine Wachstumserschöpfung ein, so daßs nicht mehr genügend Material zur Prüfung zu erlangen war. Hier sehen wir also allmählichen Abfall der Agglutinierbarkeit wie bei Nicolle und Treuel.

Eine spätere Prüfung des bei 42° gezüchteten Stammes mit einem anderen Serum vom Titer 1:10000 ergab wieder 1000 als Grenzwert.

In einem anderen Falle wollte ich feststellen, wie veränderliche hohe Temperatur wirkt. Durch Regulierung des Thermostaten wurde die Temperatur von 42° vormittags 10½ Uhr auf 45° bis mittags 1 Uhr gebracht, blieb so bis gegen 7 Uhr abends und sank bis zum nächsten Morgen um 9 Uhr auf 44°. Titer 1:1000 +++.

Wie sehr Stammesunterschiede eine Rolle bei der Beeinflussung durch hohe Temperaturen spielen, mögen die beiden nebeneinandergestellten Tabellen mit 8 Stämmen zeigen; links bei 37°, rechts bei 41° gezüchtet. Der höhere Normaltiter beruht Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

Stamm		37°		41 °				
	5000	10 000	15 000	100	1000	5000	10 000	
204	+++	+++	+++	++	_	-	_	
205	+++	1+++	+	+++		-	_	
PII	+++	+ '	_			+++	-	
PIII	+++	+++	+++			1+++	_	
Kr	+++	+	_			+++	_	
Cl	+++	+++	++		++	+	_	
В	+++	_	_		, ,	+++	_	
Н	111	+++	+++			1+++	-	

Wenn sonst schon durch kürzere oder längere Zeit fortgeführte Überzüchtung die verminderte oder etwa mangelnde Agglutinierbarkeit wieder voll auftritt, so geschieht das besonders rasch bei den experimentell durch Wärmekultur in ihrer Agglutinierbarkeit beeinträchtigten Typuskulturen. Nicolle und Trenel geben hierfür schon bemerkenswerte Zahlen. Ihr Stamm 1 war in der 54. Generation von 42° gegen ein 3000 Serum nur noch 1:10 agglutinabel. Bei der Weiterzüchtung bei 36° reagierte die 1. Generation bis 200, die 2. bis 1000, die 3. und 4. ebenso und die 5. bis 2000. — Stamm 2, bis zum 23. Röhrchen bei 42° gezüchtet, wurde durch dasselbe Serum ebenfalls nur bis zur Verdünnung 1:10 agglutiniert. Die Weiterimpfungen bei 36° ergaben: 1. Röhrchen 100, 2. 500, 3. 500, 5. 700.

Diesen Mitteilungen können eigene Versuchsergebnisse an die Seite gestellt werden. Die 3. Generation einer 40-41°-Kultur wurde bis 1:1000 mit +++ agglutiniert von einem Serum mit dem Grenzwert 10000 +++. Die erste Überimpfung auf Agar, die bei 22° kultiviert wurde, ergab 5000 +++ und als Grenzwert 10000 +, während die erste 37°-Kultur in der Verdünnung 1:10000 +++ und über die Norm hinausgehend 1:20000 noch + agglutiniert wurde. In diesem Fall wurde nicht festgestellt, wie lange sich der erhöhte Titer hielt. Die Eigenschaft des Typhusbazillus, über die gewöhnliche Grenze

hinaus agglutiniert zu werden, nachdem der Stamm einer die Agglutinierbarkeit hemmenden Ursache entzogen war, konnte mehrere Male beobachtet werden. Regelmässig ist Umzüchtung bei 37° in den angestellten Versuchen am förderlichsten gewesen. Da die Versuchsbedingungen hier andere waren, soll von einer Kritik des von Nicolle und Trenel gegebenen Rates abgesehen und die Meinung der Autoren einfach wiedergegeben werden, Da nach ihrer Ansicht der Verlust der Agglutinierbarkeit mit dem Verlust der Beweglichkeit des Typhusbazillus einhergeht, empfehlen sie auf Grund ihrer Beobachtungen an einem Bakterium, das nicht Typhus war, bei der Züchtung eines typhusverdächtigen Bakteriums aus Wasser, eine Zeitlang bei niederer Temperatur umzuzüchten, bis das Bakterium eventuell beweglich geworden ist und dann die Agglutinationsprobe vorzunehmen, Ob der Rat für die aus dem Wasser gezüchteten zunächst schlecht agglutinierbaren Typhusstämme gut ist, kann aus meinen Experimenten nicht geschlossen werden. Für die vom fiebernden Kranken stammenden und schlecht agglutinierbaren Typhusstämme ist für die Rezeptorenbildung jedenfalls die Züchtung bei 37º vorzuziehen.

Die bei höherer Temperatur nicht mehr augegangene Agarimpfung, die aber nicht steril geworden ist, zeigt bei Verbringung der Kultur in den Brutschrank (37°) die normale Höhe der agglutinablen Reaktion, lediglich eine wenig geringere Intensität. Nur ganz ausnahmsweise sieht man Abweichungen von der Regel. Bei 44° ist in einem Falle schon die 2. Generation nicht mehr wesentlich angegangen (Agglutinabilität der 1. Generation 1:1000 +++). Trotzdem wurde bis zur 4. Generation weiter verimpft und die 4. Kultur nach 24 stündigem Verweilen bei 440 in den Brutschrank verbracht. In diesem einzigen Falle sah ich eine im Brutschrank gewachsene und durch die Einwirkung hoher Temperatur beeinflusste Kultur, die selbst 1:100 nicht mehr agglutiniert wurde. Eine Prüfung, wie 1:10 oder unverdünntes Serum wirkten, musste beim hohen Wert des Serums irrelevant erscheinen. Die 2. bei 37º gezüchtete Generation hieraus wurde bereits bis 5000 agglutiniert, wenn auch schwach; 3, und 4, Ge-19 \*

neration ebenso; erst im 5. Röhrchen stellte sich der normale, wenn auch an Intensität geringere Titer von 10000 wieder ein.

Durch die letztgenannten Versuche angeregt, wo der Aufenthalt der durch hohe Temperatur beeinflußten Saat bei niederer Temperatur in seinen Folgen zur Beobachtung gekommen war, schien mir die Frage interessant, wie sich die während zweier Tage bei 37° gewachsene Kultur verhält, wenn man sie nachträglich einer höheren Temperatur aussetzt. Das Röhrchen wurde in den 55°-Schrank verbracht, in dem die Temperatur über Nacht bis 60° anstieg. Die maximale Agglutinierbarkeit war bis 1:1000 +++ gegen 10000+++ der normalen 37° Kultur zurückgegangen.

Gegenüber diesem nachträglichen Rezeptoren-Verlust unter dem Einfluss der höheren Temperatur muss bemerkt werden, daß umgekehrt der nachträgliche Aufenthalt der bei höherer Temperatur gewachsenen Kultur im Brutschrank nicht imstande ist, ihr die Agglutinierbarkeit wiederzugeben. So reagierte eine 8 Tage bei 41° gehaltene Kultur nach weiterem 14tägigen Aufenthalt bei 37° auch nur 1:1000 ++: selbstverständlich ist, daß die entsprechende 14 tägige Kontrollkultur bei 37 ° bis 10000 agglutiniert wurde. Gleichzeitig wurde derselbe Versuch so durchgeführt, dass statt des Aufenthalts im Brutschrank die 8tägige 410-Kultur 14 Tage im Eisschrank gehalten wurde. Die Eberthschen Bazillen hieraus wurden 1:100 +++ und 1:1000 + agglutiniert. Zum Beweise dafür, daß Eisschranktemperatur den schon gewachsenen Typhusbazillen nicht die Agglutinierbarkeit nimmt, wurde eine 8tägige 370-Kultur auf 14 Tage in den Eisschrank gebracht. Der Titer war normal 10000 ++.

Wieder anders verhalten sich die Kulturen, die bei einer erheblich unter 37° liegenden Temperatur gewachsen sind. Nach unten ist sehr viel größere Abweichung vom Wärmeoptimum erforderlich, um erhebliche Unterschiede in der Agglutinierbarkeit des Typhusbazillus zu erhalten. Agarkulturen, die bei 22° gezüchtet waren, wurden von einem 10000-Serum meist nur bis 5000 agglutiniert. In einem Falle hielt sich aber der Titer bis in die 7. Generation normal; in einem anderen blieb er durch 4 Generationen auf normaler Höhe, war nur minder intensiv (10000 +

statt +++) und ging in der 5. Verimpfung bis 5000 zurück. Bei 18° ist die Typhuskultur auf Agar in 24 Stunden gut gewachsen. Die Agglutinierbarkeit ist auf 5000 + gesunken (1:1000 war +++).

Bei 10° ist erst nach 3 Tagen ausreichendes Wachstum erzielt worden, um die Agglutination anstellen zu können. Der Grenzwert war 1000 +++. Bei 40 konnte ich kein Wachstum mehr beobachten. Die Temperatur offener Gewässer ist während einer erheblichen Zeit des Jahres ca. 10°, die Temperatur vieler Brunnenwässer ständig auf ungefähr dieser Höhe. Die Möglichkeit, daß das Wasser imstande ist, auch im Brunnen usw. grade wie im Malvozschen Versuch die agglutinable Substanz aus dem Typhusbazillus auszuwaschen, haben wir vorhin theoretisch konstruiert. Hier sehen wir, daß ein in den meisten Wässern ständig oder zeitweilig vorhandener, durch die Natur selbst gegebener Faktor imstande ist, den neuwachsenden Eberthschen Bazillus minder agglutinierbar zu machen. Ist allerdings auch nach dieser Richtung hin nur ein einziger Stamm geprüft worden. so ist doch die experimentelle Feststellung wichtig, dass es überhaupt Typhusbazillenstämme gibt, die - bei niederer Temperatur gewachsen - bedeutend geringer als normal agglutinierbar sind. Niedrige Wachtumstemperatur ist also der zweite in Betracht kommende Faktor für die häufig gemachte Beobachtung, daß aus Wasser gezüchtete Typhuskulturen anfangs nicht oder schlecht agglutinierbar sind.

1. G	eneration	22°	Titer	5 000	Stärke	+++
2.	>	45°	>	1 000	>	+++
3.	,	220	>	5000	>	+++
4.	>	45°	>	5 000	>	+?
5.	>	220		10000	>	+
6.	>	450	>	10 000	>	+++

Fassen wir noch einmal die Wirkung hoher Temperaturen auf Typhusbazillen in Agarkulturen in folgende Hauptsätze zusammen:

Die bei 40-41° gewachsenen Kulturen sind meist erheblich weniger agglutinabel als die 37°-Kulturen. Stammesunterschiede spielen eine wichtige Rolle für den Grad der Agglutinierbarkeitserniedrigung. Temperaturen über 41°-bis zur Grenze der Wachstumsfähigkeit (ca. 45°) drücken bei dem Stamm H den Titer nicht weiter herab.

Durch Überimpfung der bei hoher Temperatur gewachsenen Typhuskultur und Fortzüchtung bei 37° wird sehr bald der normale Titer wieder erreicht und manchmal sogar überschritten.

Der nachträgliche Aufenthalt der bei 37° gewachsenen Typhuskultur bei Temperaturen über 40° nimmt den Bazillen einen Teil ihrer Agglutinierbarkeit.

Umgekehrt ist aber der nachträgliche Aufenthalt der bei hoher Temperatur gewachsenen Typhuskultur bei 37°, bei 22° oder im Eisschrank nicht imstande, den Bazillen den verlorenen Teil der Agglutinierbarkeit ganz oder teilweise wiederzugeben.

Bei niedrigerer Temperatur gewachsene Kulturen von Typhus H sind minder hoch agglutinabel als 37°-Kulturen. Der Unterschied ist bei 22°-Kulturen noch mäßig, stärker bei Kulturen von 18° und erheblich bei Kulturen von 10°.

Durch wechselnde Züchtung der einzelnen Generationen von Typhus H bei 22° und bei 45° ist es möglich gewesen, den Stamm in dem Sinne an beide Temperaturen zu gewöhnen, daß nach einigen Generationen keine von beiden Temperaturen Agglutinierbarkeitserniedrigung bewirkte.

Beim Typhuskranken ist die Fiebertemperatur allein schon imstande, die Agglutinierbarkeit der Eberthschen Bazillen zu schädigen. Gibt es aber noch andere Umstände im tierischen

Körper, die dieselbe Wirkung haben? Eine ganze Reihe von Autoren hat in diesem Sinne veränderte Typhusbazillen aus den Milzen menschlicher Leichen gezüchtet. Nicolle und Trenel haben dann gefunden, dass die Verringerung des passiven Agglutinationstiters einmal nicht in allen Fällen vorhanden ist, in denen Typhusbazillen aus der Milz gezüchtet wurden, und zweitens dass kleine Unterschiede der Agglutinierbarkeit auch zwischen den einzelnen Kolonien aus derselben Milz vorhanden sind. Sie haben dann weiter bei experimenteller Prüfung aus dem Gallenblaseneiter eines infizierten Meerschweinchens einen Stamm erhalten, dessen Titer anfangs von 1:2000 auf 1:10 herabgesetzt war. Auch die Bakterien im Peritonealexsudat intraperitoneal geimpster Meerschweinchen büßen einen Teil ihrer Agglutinierbarkeit ein. Eine ganze Agarkultur Typhus wurde von Bail in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt und einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt. Nach einigen Stunden erfolgte der Tod. Bail hat die Exsudatflüssigkeit selbst mit spezifischem Serum in verschiedenen Verdünnungsgraden zur Agglutinationsprobe angesetzt und eine auf denselben Grad der Trübung gebrachte Bouillonkultur zur Kontrolle benutzt. Bei mikroskopischer Prüfung war der Titer von 40000 auf 7500 zurückgegangen. Die makroskopische Untersuchung ergab in diesem Falle (Versuch 1) keine quantitative Veränderung; lediglich ein zeitliches Zurückbleiben der Agglutination. Um zu beweisen, daß nicht die Exsudatflüssigkeit im Reagenzglase die Agglutination hemmt, hat Bail (Versuche 8 und 9) das Exsudat zunächst filtriert, dann hat er zentrifugiert, dekantiert, mit destilliertem Wasser ausgewaschen und schliefslich die gesammelten Bakterien wieder aufgeschwemmt. Mikroskopisch wurden die Bakterien nur 1:50 von einem 5000-Serum agglutiniert. Zur Kontrolle wurde eine Bouillonkultur zunächst genau ebenso behandelt und dann mit Serum und der defibrinierten Exsudatflüssigkeit versetzt. Agglutination trat bis zur Verdünnung 1:3000 ein. In diesem Versuch ist von Bail die Möglichkeit nicht ausgeschlossen worden. daß die Typhusbazillen der Exsudatflüssigkeit bei der Waschung mit destilliertem Wasser - entsprechend dem Malvozschen 296 Experimentelle Herabsetzung d. Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus.

Versuch — ihre vielleicht vorhandenen agglutinablen Substanzen leichter abgeben als Kulturbazillen.

Der Versuch läßt sich folgendermaßen sehr einfach gestalten:

# Versuch 1.

Am 18. Jan. 1905 habe ich ein Meerschweinchen, Gewicht 275 g, abends 6 Uhr 30 Min. mit einer 2 Milligrammöse Typhus-Agarkultur, die in 1 ccm steriler 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt war, intraperitoneal geimpft. Der Stamm wurde durch das für diese Versuchsreiche benutzte Serum, das ich ebenfalls der Güte des Herrn Prof. Kolle verdanke, bis zur Verdünnung 1:15000 +++ agglutiniert. Am folgenden Morgen, 15 Stunden nach der Impfung, fand ich das Tier tot in seinem Käfig. Starre war noch nicht eingetreten. Von dem unter aseptischen Kautelen angelegten Milzquerschnitt wurde mit der Öse etwas Pulpa entnommen und auf einer Drigalski-Agarplatte ausgestrichen. Nach 24 Stunden war die Platte in Reinkultur mit zahlreichen Typhuskolonien bewachsen. Aufs gerade Wohl wird mit der Platinnadel eine Spur von einer dieser Kolonien entnommen und auf schräg erstarrtem Agar über die ganze Fläche ausgestrichen; die Kultur ist nach 24 Stunden dicht gewachsen. Der Titer ist bis auf 1:100 ++ gegen dasselbe Serum herabgegangen. Bei dieser Versuchsanordnung ist es ganz ausgeschlossen, daß eine irgendwie wirksame Menge der Milzsubstanz bis in eine Öse der zweiten Generation der Kultur hineingekommen ist. Die wieder mit der Nadelspitze vorgenommene Flächenimpfung eines weiteren Röhrchens gab nach 24 Stunden eine Kultur, die auch nicht höher als die zweite Generation agglutiniert wurde. Dies Röhrchen habe ich dann 39 Tage im Laboratoriumsschrank altern lassen und dann mit der Kultur erneut die Agglutinationsprüfung vorgenommen. Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank war der Titer wieder 1:100 ++; nachdem das Röhrchen dann noch 4 Stunden im Zimmer gestanden hatte, war der Agglutinationswert 1:1000 +.

# Versuch 2,

der ganz analog angestellt wurde, zeigt, daß diese Herabsetzung der Agglutinierbarkeit nicht in allen Fällen eintrat.

#### Versuch R

In diesem ebenfalls dem ersten analogen Versuch wurden vergleichsweise Ascites und Milzpulpa auf Drigalski-Agar ausgestrichen. Von dem zahlreich in Reinkultur gewachsenen Kolonien wurde je eine auf Bouillon-Agar übertragen. Die Ascitestyphuskultur reagierte 1:100 nur zweifelhaft; die Milzkultur bis 1:1000 + + Diese stufenweise erfolgte Abschwächung ist obendrein noch ein Beweis dafür, daß auch die schwächer agglutinierte Varietät Typhus gewesen ist.

In diesen Fällen ist stets die Wirkung des gesunden und normalen Tieres zur Geltung gekommen. Mit dem spezifisch hochimmunisierten Tiere hat nur Sacquépée Versuche angestellt. Er hat die Typhusbazillen in einem Kollodiumsack eingeschlossen und diesen einer gegen Typhus immunisierten Ratte in die Peritonealhöhle gebracht. Nach einem Monat wurde der Sack entfernt, geöffnet und mit seinem Inhalt ein neues mit Bouillon gefülltes Kollodiumsäckchen geimpft, das einer zweiten Ratte einverleibt wurde. So ging es fort durch fünf Tierkörper hindurch. Sacquépée konnte von Tier zu Tier eine Abnahme in der Agglutinierbarkeit der Typhusbazillen konstatieren. Der Verlust nach der letzten Übertragung betrug

Diesem einen Versuch, im Körper immunisierter Tiere dem Typhusbazillus einen Teil seiner Agglutinierbarkeit zu nehmen, stehen zahlreiche Untersuchungen gegenüber, wo der Bazillus mehr oder weniger lange Zeit in vitro in hochwertigem Serum gehalten wurde, um die Veränderlichkeit der Agglutinierbarkeit zu studieren. Die ersten Versuche derart wurden schon 1898 von Ransom & Kitashima mit Cholera angestellt. Sie haben die Vibrionen in 1% Serumbouillon — Serum vom Titer 1000 — durch 20 Generationen gezüchtet. Aus dem letzten Röhrchen übertrugen sie auf Agar. Der Agglutinationswert gegen dasselbe Serum war auf 1:50 gesunken.

Der erste Versuch mit Typhusbazillen wurde von Sacquépée angestellt. Dieser hielt eine Kultur in einer Serumverdünnung 1:3 durch 45 Tage. Er hat keine Abschwächung der Agglutinierbarkeit erzielt. Der Grund für den negativen Ausfall dürfte sich aus dem Folgenden ergeben.

E. W. Ainley Walker hat bei Züchtung von Typhusbazillen im Immunserum und dann auf Agar eine Abnahme der Agglutinierbarkeit bei gleichzeitiger Steigerung der Virulenz beobachtet. Ebenso hat Paul Th. Müller erfolgreich experimentiert. In seinem Versuch II allerdings, in dem er mit >Zoroaster«-Serum vom Titer 20000 operierte und in einer Bouillonverdünnung von 1:50 durch 19 Generationen gezüchtet hatte, hat er nur eine geringere Intensität der Agglutination, aber keine Erniedrigung des passiven oder bazillären Titers erreicht. Er hat, um die Bakterien von dem aus der Kultur anhaftenden Serum zu befreien, mit je einer Öse Verdünnungen durch drei Bouillonröhrchen angelegt, im dritten Röhrchen augereichert und durch Bouillonzusatz auf den gleichen Trübungszustand mit der zu Kontrollversuchen benutzten Bouillonkultur normaler Bazillen gebracht. Im dritten Versuche, zu dem er ein anderes Serum »Elsa« bei ganz gleicher Anordnung benutzte, erlangte Müller in der zehnten Generation eine Varietät des Stammes, deren Titer 40 mal geringer war als beim Originalstamme. Mit Recht legt der Autor besonderen Wert darauf, das die Verminderung der Agglutinierbarkeit nicht blos die drei Verdünnungen überdauert, sondern »sogar die mit Entstehung zahlloser neuer Generationen verbundene Züchtung auf dem schrägen Agar der Kulturslaschen.« Grenzwerte der Serumverdünnung schwächen die Agglutinierbarkeit nicht.

Mit wechselndem Erfolge hat auch nach Kirstein spezifisches Serum auf die Agglutinationsfähigkeit des Typhusbazillus eingewirkt. Kirstein hat, um die Wirkung der Komplemente auszuschalten, das benutzte Serum zunächst durch einstündigen Aufenthalt bei 60° inaktiviert. In der einen Versuchsreihe wurden zwei Stämme in der Verdünnung 1:25 eines Serums vom Titer 10000 durch 12 Tage gehalten. Darauf wurden die Bazillen ausgewaschen und das Sediment auf Agar übergeimpft. Der erste Stamm hatte normalen Titer; der Titer des anderen Stammes war auf 1000 gesunken und hat sich erst in der vierten Weiterimpfung wieder normal gestellt. In einem anderen Falle hat Kirstein zwei Stämme durch zwölf Überimpfungen in Serumbouillonkulturen von der Verdünnung 1:100 bei dem Serumtiter 1000 gezüchtet. Dann hat er auf neutralen Agar übergeimpft. Die Kulturen zeigten keine Änderung der Agglutinierbarkeit.

Aus eigener Erfahrung kann ich diese Mitteilung dahin erweitern, dass verschiedene spezifische Sera von gleichhohem Titer doch verschieden starke Fähigkeit besitzen können, den darin gehaltenen Typhusbazillen die Agglutinierbarkeit zu nehmen. Für die Prüfung der Agglutinabilität kann ich es nicht für

zweckmäßig halten, die Bakterien auszuwaschen; dabei können zu sehr — vgl. das oben Ausgeführte — fremde Einflüsse eine unerwünschte Rolle spielen. Ich habe mit der 2 Milligrammöse in der einen Versuchsreihe zum Zweck der Kontrolle die betreffende Serumverdünnung auf der Oberfläche, von schrägerstarrtem gewöhnlichen Bouillonagar ausgestrichen und die so präparierte Fläche mit der Spitze der Platinnadel flächenhaft mit Typhuskultur beimpft. Bei den anderen Reihen sollen weniger die absoluten Zahlen, als die Titer in den einzelnen Zeilen untereinander die Unterlage für eine vergleichsweise Betrachtung abgeben.

Bei Einwirkung des Serums Titer  $10\,000++$  während einer  $^{1}/_{2}$  Stunde im Brutschrank und Ausstrich auf Agar mit der Öse wurden Kulturen mit folgendem Titer erhalten:

Serumkon- zentration	1 100	1 1000	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1		Kontrolle: Typhus at von 1 Ose Se Gegen Seru		se Serum	asstricl	1
				100	1000	5000	10000	20000	
1/3	_	-	_	-	+++1		_	_	_
1/10	_	_	_	-	+++	- 1	-	— ·	-
1/100	++	+	_	-	+++1	++	+	-	-
1/1000	+++	+			+++	+++	++		_
1/5000	+++	++	++	-	+++	+++	++	+	-
1/10000	+++	++	++		+++	+++	++	+	-
1/20000	+++	++	++	-	+++1	+++1	+++	+	_

Jede horizontale Reihe entspricht in beiden Hälften derselben Serumkonzentration: links ist der Ausstrich auf Agar nach ½ stündigem Aufenthalt im Brutschrank, rechts die Impfung auf Agar austitriert, der mit derselben Öse oberflächlich mit Serum bestrichen war. Es ist offenbar, wie viel stärker der Einfluß des ½ stündigen Aufenthalts im Brutschrank eingewirkt hat, als dem gleichen Quantum übertragenen Serums zukommt. Auffallend ist, daß die an sich unwirksame Serumverdünnung 1:20000 bei längerer Einwirkung den Titer herabzusetzen vermochte. Eisenberg und Volk haben gezeigt, daß Typhusbazillen bei völliger — also gleich stark sichtbarer — Agglutination

eine ungleich größere Menge Agglutinin dem konzentrierteren Serum entziehen als dem verdünnteren, und daß die in dieser Weise überladenen Bakterien Agglutinin an eine dünnere Lösung wieder abgeben können. In schwächerer, aufnahmefähiger Umgebung befinden sich die gesättigten Typhusbazillen ihren folgenden Generationen gegenüber und wären deshalb auch von vornherein imstande, Agglutinin abzugeben. Während des Wachstums werden die Agglutinine aber zweifellos unwirksam, denn sonst müßte bei der Agglutinationsprobe nur noch die nachträgliche Eintragung des zur Erzielung des bakteriellen Endwertes der Agglutination fehlenden Serums erforderlich sein. d. h. die Bazillen müßten aus dieser Kultur, die schon Agglutinin enthält, höher agglutinabel sein; das Gegenteil ist der Fall. weil, wie wir unten sehen werden, auch Rezeptoren zugrunde gehen und nicht quantitativ neu gebildet werden. Mit den im Serum agglutinierten Bazillen wird nun eine größere Menge Agglutinin mit auf den Agar übertragen als in einer Öse Serum enthalten ist, und so erklärt sich zwanglos der Unterschied zwischen den beiden Hälften der obigen Tabelle. Die Rezeptorenbildung bleibt durch die zahlreichen Generationen, die in jeder Agarkultur die Gesamtheit der Bakterienmasse ausmachen, unter der Norm; auch die ersten Überimpfungen sind noch nicht voll agglutinierbar. Der volle Titer wird um so später wieder erfeicht, je größer der Verlust der Agglutinabilität war. Verlust ist nicht dauernd, sondern sehr rasch ersetzbar. Der Titer der weiteren Agarübertragungen ist:

aus Serum 
$$^{1}/_{1}$$
 2. Impfung  $1000++$  3. Impfung  $1000++$  ,  $^{1}/_{10}$  2. ,  $1000++$  3. ,  $10000++$ 

In den Kulturen aus schwächeren Lösungen war schon die 2. Impfung wieder vollwertig.

Bei länger dauernder Einwirkung zwischen demselben Serum und demselben Stamme bei 37° zeigte die erste Agarkultur aus dem reinen Serum und aus den verschiedenen Verdünnungen folgende Grenzwerte (Titer der unbeeinflußten Kultur 10000):

Serumkon-			Nach		
zentration	1/2 Stunde	6 Stunden	1 Tage	3 Tagen	6 Tager
1:1	0	0	100?	1000	0
1:10	0	100	100	1000	U
1:100	1000	1000	5000	5000?	_
1:1000	1000	1000	10000	10000	_
1:5000	5000	5000	10000	10000	_
1:10000	5000	5000	10000	10000	_
1:20000	5000	10000	10000	10000	

Bei Betrachtung der vertikalen Reihen ergibt sich, dass stets — bei gleicher Einwirkungsdauer — das konzentriertere Serum die Agglutinierbarkeit des Stammes stärker herabsetzt als das schwächere Serum. Die horizontalen Reihen zeigen, das die längere Dauer der Serumeinwirkung jenseits einer bestimmten Zeitgrenze die Agglutinierbarkeit des Typhus nicht herabsetzt, sondern sie steigert; bei sehr langer Einwirkung sinkt der Titer wieder.

Da, wie noch ausgeführt werden soll, die Titerschwankungen der Bakterien parallel gehen mit ihrer Agglutinin-Bindungsfähigkeit oder mit dem Besitz von freien Rezeptoren, so bleibt im Sinne der Ehrlich schen Anschauung nur übrig, daß wir entweder annehmen, daß gebundenes Agglutinin zugrunde geht und die Rezeptoren wieder frei werden, wodurch freilich die neuerliche spätere Erniedrigung des Titers nicht erklärt ist, oder daß unter dem Einfluß des Rezeptorenverbrauchs und Bedarß eine reaktive Rezeptoren-Neubildung stattfindet, die um so geringer wird, je mehr sich die Produktivität erschöpft.

Mit einem anderen Serum vom Titer  $15\,000+++$  gegen Stamm H wurde in der Verdünnung 1:10 der Versuch 14 Tage lang durchgeführt. Dies Serum war in viel geringerem Maße imstande, die Agglutinierbarkeit herabzusetzen. Der Titer war in der ersten Agarimpfung aus einstündigem Aufenthalt in Serum nur bis 5000+ zurückgegangen, stieg dann auf die volle Höhe, um in der Kultur aus 14 tägigem Aufenthalt in Serum bis 10000+++ zu fallen.

Durch 6tägige Züchtung in reinem Patientenserum vom Titer 200 und Ausstrich auf Agar habe ich keine Veränderung der Kultur gegen Immunserum erreicht. Aus dem Gesagten geht hervor, dass dieser negative Ausfall nichts beweist, weil nicht Überimpfungen zu verschiedenen Zeiten stattgefunden haben.

Es läßt sich vermuten, daß die zeitlichen Schwankungen der Agglutinationsgrenzen sich bei anderen Typhusstämmen ähnlich verhalten werden wie bei Stamm H. Bei Benutzung der für die Reaktionsprüfung auf Wärmewirkung schon einmal genannten Typhusstämme und unter Verwendung desselben Serums wie dort wurden zunächst Aufschwemmungen von je einer 2 mg-Öse Bakterien in 1 ccm der Serumverdünnung 1:10 hergestellt; diese wurden in den Brutschrank gebracht, und von jedem Röhrchen wurde nach 1 Stunde und nach 3 Tagen ein Agarröhrchen beimpft. Der passive Agglutinations-Titer aller 1 Stundenkulturen war 5000 mit verschiedener Intensität. Er war also in fünf Fällen von 15000, in zwei Fällen von 10000 auf 5000 gesunken; nur bei Stamm B hatte sich der an sich schon unternormale Titer weder an Höhe noch an Intensität der Agglutination geändert. Die nach dreitägigem Aufenthalt der Bazillen in Serum angelegten Agarkulturen wurden mit Ausnahme von P III nicht mehr durch das Serum in der Verdünnung 1:5000 agglutiniert. P III war wieder auf 10000 gestiegen. Auch Stamm H hatte in der Kultur aus einstündigem Serumaufenthalt den Titer 5000 und war nach dreitägiger Einwirkung des Serums unter diese Grenze gesunken. Hieraus folgt, daß bei gleicher Serumkonzentration das stärkere Serum nicht rascher den Verlust der Agglutinierbarkeit bei demselben Stamme bewirken muß. Ferner kann man hieraus den Schlufs ziehen, der vorhin nur angedeutet wurde, dass unterhalb einer bestimmten Einwirkungsdauer zunächst eine Abnahme der Agglutinierbarkeit sich ergibt. P III hat sich nach 3 Tagen bereits im Stadium der reaktiven Rezeptoren-Vermehrung befunden. Bei keinem Stamm ist unter der Einwirkung des Serums die Agglutinierbarkeit erhalten geblieben (auch B. hatte nach dreitägiger Serumwirkung den Titer 5000 verloren).

Einstündiger Aufenthalt in einem 10 proz. Gemisch dieses Serums mit physiol. Kochsalzlösung hat den Titer der vier zum Versuch herangezogenen Stämme 204, P II, K. und H. nicht nur gegen dasselbe Serum, sondern auch gegen ein zu diesem Zwecke hergestelltes mittelstarkes Kaninchenserum vom Titer 1000 herabgesetzt. Umgekehrt hat eine Lösung des 1000 Serums in der Verdünnung 1:10 bei einstündiger Einwirkung und folgender Übertragung auf Agar in allen vier Fällen den Titer wohl im Versuch gegen das starke Serum herabgesetzt aber nur einmal gegen das eigene zur Abschwächung benutzte mittel starke Serum. Wenn wir noch berücksichtigen, daß das schwache Patientenserum in unserem Versuche die Agglutinierbarkeit nicht beeinträchtigt hat, so ergibt sich die Forderung, zur Beeinflussung der Agglutinabilität des Typhusbazillus mittelstark oder besser noch stark wirksame Sera zu benutzen, zur Prüfung des Verlustes an Agglutinierbarkeit aber nur hochwertiges Serum zu benutzen.

In der Literatur finden sich dann verschiedene Bemerkungen über die Fähigkeit chemischer Agentien, gelöst in einem Nährboden, dem in oder auf demselben gewachsenen Typhusbazillus einen Teil seiner Agglutinierbarkeit zu nehmen.

Während Farchetti angibt, daß es ihm gelungen sei, in Glyzerinbouillon mit Sodazusatz minder agglutinable Typhusbazillen gezüchtet zu haben, hat Kirstein, der sechs Stämme auf Agar mit Zusatz von 0,2% Natronlauge (der zulässigen oberen Grenze) durch je 30 Röhrchen züchtete und die Kulturen in dem 10. und 30. Röhrchen prüfte, gefunden, daß vier Stämme ihre Agglutinierbarkeit nicht änderten, daß aber bei beiden Prüfungen der Titer des einen Stammes von 1500 auf 1200, der des andern von 1500 auf 1000 zurückgegangen war. Die Änderung ist zweifellos; so kleine Rückgänge kommen bei manchen Stämmen zeitweilig aber auch ohne Änderung des Nährbodens vor. Der einmalige Versuch mit geringem Effekt ist deshalb um so weniger beweisend, weil Kirstein keine Angaben darüber macht, ob er die Stämme zur Kontrolle auch gleichzeitig durch je 30 Generationen auf gewöhnlichem Laboratoriumsagar ge-

züchtet hat. Sehr hübsch ist dagegen Kirsteins Versuch, die Bailsche Methode (Exsudatbakterien) mit der Prüfung des stark alkalischen Agars zu kombinieren. Der Autor hat im Verfolg des Bailschen Experimentes die Bakterien aus dem Peritoneum des Meerschweinchens nach 10 Minuten wieder herausgenommen und auf seinem stark alkalischen Agar ausgestrichen; auch hierzu wurden die 6 Typhusstämme benutzt und zur Prüfung ein Serum vom Titer 10000 benutzt. Die Agglutinabilität war vier Mal unverändert, in einem Falle bis 100, im andern bis 1000 erniedrigt. Bei Fortzüchtung auf alkalischem Agar war beide Male erst das 8. Röhrchen (das erste mitgerechnet) wieder normal; bei der Überimpfung vom ersten stark alkalischen Agar auf gewöhnlichen Agar waren beide Stämme sofort wieder in voller Höhe agglutinierbar. Hieraus geht hervor, dass selbst auf dem mit Natronlauge bis zur zulässigen Grenze versetzten Agar eine allmähliche Wiederherstellung der etwa verloren gegangenen Agglutinierbarkeit erfolgt, die nur langsamer erfolgt als auf gewöhnlichem Agar. Durch Zusatz von 2 ccm kalt gesättigter wässriger Sodalösung zu 100 ccm Agar erhielt ich einen Nährboden, auf dem Typhus noch sehr gut wuchs, während 4 ccm Zusatz den Agar untauglich machten. Ein Ausstrich des Stammes H auf dem ersteren zeigte außer einer geringfügigen Intensitätsabschwächung keine Änderung des Titers gegen ein Serum 10000 + ++. Auch bei Benutzung eines schwach saueren Agars und Prüfung sämtlicher Stämme habe ich keine Verringerung des Titers eintreten sehen.

Außer diesen Alkalisierungsversuchen sind nur noch ganz wenige Versuche über die Wirkung von Chemikalien auf die Agglutinierbarkeit der Typhusbazillen angestellt worden. Le sie ur hat durch Züchtung in phenolhaltigen Nährböden geringer agglutinable Varietäten erhalten. Unser Stamm H wuchs sehr gut auf Agar, der bis zu 0,1% reines Phenol enthielt; darüber hinaus war das Wachstum auch nach mehreren Tagen ungenügend, resp. überhaupt null. Der Titer des Stammes vom 1. Röhrchen mit 0,05% Phenolzusatz war normal mit 10000  $+\,+\,+$ , der Titer des 1. Röhrchens mit 0,1% Karbolsäure stand nur

5000++. Eine Abschwächung besteht also unter dem Einfluß der Karbolsäure sicher, zumal die Wiederholung des Versuchs dasselbe Ergebnis hatte. Ob eine Fortzüchtung auf dem Karbolagar von 0,1% eine weitere Abschwächung zur Folge hat, weiß ich nicht. Aaser macht neuerdings die Mitteilung, daß bei schon gewachsenen Kulturen von normaler Agglutinierbarkeit die Abtötung mit 0,5 proz. Karbolsäure den Titer herabsetzt, während der Zusatz von Chloroform (4 Volumprozente) oder Toluol keine Anderung bewirkt. Auch Formalinzusatz soll nach Asakawa sowie Jörgensen & Madsen die Agglutinierbarkeit der schon gewachsenen Typhuskultur nicht mindern. Während sich Phenol im Darminhalt als Zersetzungsprodukt finden kann, ist Kalomel-(Hg Cl) anwesenheit Folge der Medikation. Der größte zum Wachstum des Typhus noch eben, wenn auch wenig konvenable Zusatz von Kalomel zum Agar ist 1:5000 in erstarrter Schüttelmischung; dieser Nährboden hat in der ersten Generation an der Agglutinierbarkeit des erst nach drei Tagen ausreichend gewachsenen Typhus H nichts geändert. Dagegen gelingt es durch Zusatz von Sublimat, das bei Calomelbehandlung des Typhuskranken auch im Magen des Kranken entsteht, zum Nährboden im Verhältnis 1:50000 die Agglutinierbarkeit des Typhusbazillus so weit zu beeinträchtigen, dass die 6. Kultur Typhi H von einem 15000 + + + Serum bis 10000 + + +, die 7. Kultur nur bis 5000+++ agglutiniert wurde. Andere Stämme verhalten sich dem Sublimat Agar gegenüber empfindlicher. Die erste Generation der unter dem Einfluss des Sublimats gewachsenen Kulturen konnte aus Zeitmangel nur mit der Serumverdünnung 1:5000 ausgeprobt werden zwecks Feststellung derjenigen Stämme, die eine erhebliche Einbusse an Agglutinierbarkeit erlitten haben.

(Siehe die Tabelle auf S. 306.)

Vier von den 8 Stämmen haben also empfindlich reagiert (204, 205, K und geringer C).

Die spezielle Frage, wie sich der in Erdboden eingesäte Typhusbazillus verhält, hat Rullmann experimentell geprüft. Er fand, daß die in Humusplatten eingesäten Typhusbazillen

20

einen großen Teil ihrer Agglutinierbarkeit nach 18 Monaten eingebüßt hatten. Der Titer war von 1:10000 und 1:40000 auf 1:2500 zurückgegangen. Im Rullmannschen Versuch kamen eine ganze Menge von Einflüssen zur Geltung, die natürlich nicht einzeln bewertet werden können, Altern, chemische Wirkung der Humin- und sonstigen Substanzen im Erdboden und geringe — vielleicht noch schwankende — Temperatur, die aber mindestens zeitweilig der Vermehrung nicht ungünstig gewesen ist.

		a) normal				
Stamm	1 5000	umverdünnun 1 10000	1 15000	Gegen Serum  1  5000		
204	+++	+++	+++	+		
205	+++	+++	+			
PII	+++	+	_	+++		
PIII	+++	+++	+++	4 +++		
K	+++	+	_			
C	+++	+++	++	++		
В	+++	_	+	1 ++		
H	+++	+++	+++	+++		

Von anderen Chemikalien, deren Anwesenheit im Nährboden die Agglutinierbarkeit der neuen Generationen beeinträchtigt, ist m. W. in der Literatur nur noch das Malachidgrün genannt. Lentz und Tietz haben gefunden, dass Typhus, der auf dem Malachitgrünagar des Löfflerschen Institus gewachsen ist, nur schwach agglutiniert wird. Bei Umzüchtungen kehrte der Titer bald wieder.

Es ist eine außerordentlich leicht zu konstatierende Tatsache, die jeder Bakteriologe bei seinen täglichen Arbeiten oft zu beobachten Gelegenheit hat, daß Bakterienarten, die nicht in Reinkultur auf einem Nährboden vegetieren, einen Wettkampf um ihre Existenz führen, der bald nur zur zahlenmäßigen Verringerung, bald zur Unterdrückung einer Art führt. So werden aus Typhusstuhl die Typhusbazillen auf den gewöhnlichen Nährmedien ganz und gar von den übrigen Bakterien überwuchert

und zurückgedrängt (Gotschlich). Typhus und Milzbrand sind nach Pavone ebenfalls Antagonisten. Dagegen sollen nach Pfuhl Typhus und Koli auf Kartoffeln nebeneinander ihre Existenzbedingungen finden können. Es ist bekannt, daß der Hefe eine bakterizide Kraft — unabhängig vom symbiotischen Konkurrenzkampf — zugeschrieben wird, und daß daraufhin eine Hefetherapie bei einer Reihe von Krankheiten inauguriert worden ist, für die jetzt eine ganze Anzahl von Hefepräparaten im Handel empfohlen wird.

Nach der Richtung hin, wie sich Typhus und Hefe gegeneinander bei gleichzeitiger Anwesenheit in einer indifferenten Flüssigkeit, physiologischer Kochsalzlösung (0,85%) verhalten, habe ich insoweit einige kleine Versuche angestellt, als ihr Ergebnis die Möglichkeit zur Fortführung der Experimente über künstliche Erniedrigung der Agglutinierbarkeit dartun konnte. Aus einem Typhus-Hefe-Gemisch die Typhusbazillen in Reinkultur zu züchten, ist besonders leicht mit Hilfe des Drigalski-Conradischen Nährbodens, da Hirschbruch und Schwer gefunden haben, das Hefe auf diesem Agar nicht wächst.

In 1 ccm steriler Na Cl-Lösung werden eine Normalöse Typhusbazillen und 3 Ösen Hefereinkultur aufgeschwemmt. Das Röhrchen wird bei 37° gehalten. Nach 1, 3, 6, 24 Stunden und nach 2 und 5 Tagen wird je eine Öse des Inhalts auf Drigalski-Agar ausgestrichen. Auf sämtlichen Platten gehen zahlreiche charakteristisch aussehende Typhuskolonien an; Verunreinigungen finden sich auf keiner Platte.

Da ich von vornherein vermutete, daß Hefe die Agglutinierbarkeit des Typhusbazillus beeinträchtigen würde, aber nicht wissen konnte, ob ein indifferentes Medium für die Beeinflussung ausreichen würde, habe ich denselben Versuch noch einmal unter Zufügung von 3% Glukose zur Salzlösung angestellt mit dem Ergebnis, daß nach 6 Stunden noch zahlreiche Typhuskolonien wuchsen, während nach 24 Stunden, 2 Tagen usw. die Drigalski-Platten steril blieben

Bei allen folgenden Versuchen wurde aus den in Reinkulturen gewachsenen Typhuskolonien eine aufs geradewohl auf 308 Experimentelle Herabsetzung d. Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus.

schrägem Agar ausgestrichen und diese Kultur als erstes Röhrchen bezeichnet.

Meine Vermutung, dafs Hefe die Agglutinierbarkeit des Typhus abzuschwächen imstande sein könnte, hatte ich aus einigen Angaben in der Literatur geschöpft. Metschnikoff hat gefunden, dafs Bakterien und Pilze die Fähigkeit besitzen, Toxine zu zerstören und aus ihnen Vakzins zu bilden; dabei entstehen aber keine Antitoxine, weil, wie Paul Th. Müller recht plausibel meint, die Toxine nicht eben für die Bakterien Toxine sind.

Hefe ist auch imstande, dem Serum bestimmte, bei den Immunitätsreaktionen beteiligte Faktoren zu entziehen. Nach den Mitteilungen von v. Dungern, sowie Ehrlich und Sachs ist Hefe ein ausgezeichnetes Mittel, um die Komplemente eines Serums zu entfernen. Diese Methode bringt eine totale Beseitigung der Komplemente zustande, während die gewöhnlich benutzte Art der Serum-Inaktivierung durch Erhitzen zur Folge hat, dass die im inaktiven Serum noch befindlichen Komplementoide eine Verstopfung der komplementophilen Ambozeptorengruppen gegen nachträglichen Zusatz von Komplementen bewirkten.

So schien es denn von vornherein möglich, dass Hefe die Agglutiningezeptoren des Typhusbazillus beeinflussen könnte.

Versuch 1.

Untersucht wurde je das erste Agarröhrchen nach Reinzüchtung auf Drigalski-Agar. 3 Ösen Hefe wirkten auf 1 Öse Typhus (Stamm H) in 1 cem steriler physiol. Kochsalzlösung.

Nach	100	1000	5000	10 000	20 000
1 Stunde 6 Stunden	Control of the contro	++++	++	++	_
1 Tag	1 -	-		_	1
2 Tagen	+++	+++	+++	+++	_
5 Tagen	+++	+++	+++	+++	_
Normaltyphus		++++	+++	++	_

Nach einer Stunde ist noch keine Änderung der Intensität bei komplett erhaltenem Titer gegenüber den agglutinativen Werten des Normaltyphus (derselbe Stamm unbeeinflusst) eingetreten. Nach 6 Stunden ist der Wert knapp 1000, nach 24 Stunden selbst bei 100 durchaus negativ.

Die Analogie mit den v. Dungern, Ehrlich-Sachsschen Befunden ist recht eklatant. Da, wie wir später noch sehen werden, die bakterielle Agglutinationserniedrigung bei jeder von mir benutzten Methode verbunden ist mit Verringerung der Agglutininbindung, ist im Ehrlichschen Sinne eine Rezeptorenverminderung die Ursache des niederen Titers. Also: Unter dem Einfluss der Hefe tritt Verlust von Rezeptoren für Agglutinine im Typhusbazillus ein. Dieser Verlust ist ein allmählicher und ist im vorliegenden Falle vorübergehend total geworden.

Der fundamentale Unterschied gegenüber der Inaktivierung von Serum durch Hefe liegt aber darin, daß im Serum eine bestimmte Menge von Komplementen vorhanden ist, die aus sich heraus uicht vermehrbar ist, während wir es im Falle der Agglutininrezeptoren mit lebenden Bakterien zu tun haben, die auf die äußere actio mit einer reactio antworten. Der Bindung von Rezeptoren folgt eine vermehrte Neubildung, die aber nicht sofort erkennbar ist, sondern erst nach einer gewissen Dauer der Einwirkung, die wiederum — wie wir auch noch sehen werden — eine Funktion der Stärke des Eingriffs ist.

So erklärt es sich, dass nach 2 Tagen und länger nicht nur der normale Titer wieder erreicht ist, sondern sogar eine intensivere Reaktion die Folge des Eingriffs ist.

Bei Fortzüchtung kommt die Vererbung des erworbenen jeweiligen Zustandes mit in Betracht; aber auch die Richtung der Zustandsänderung gehört zu den vererbbaren Eigenschaften.

Die Typhusbazillen hatten von der einstündigen Einwirkung über die sechsstündige bis 24 Stunden die Tendenz, Rezeptoren nicht oder eigentlich immer weniger nachzubilden. Der Titer des Röhrchens aus 6 Stunden war 1000 +. Das zweite Röhrchen hieraus wurde selbst durch die Serumverdünnung 1:100 nicht agglutiniert.

Die Vorgänge erfolgen in der physiol. Kochsalzlösung mit 3% Glukose-Zusatz rascher. Bei denselben Mengenverhältnissen zwischen Hefe und Typhus ist der Titer nach 1 Stunde 5000 ++++, nach 6 Stunden schon wieder normal; nach 1 Tag sind die Typhusbazillen abgetötet. Zu welcher Zeit zwischen 1 und 6 Stunden das Maximum der Agglutinationserniedrigung erfolgt, habe ich nicht ermittelt.

Eine einzige Versuchsreihe würde nicht gestatten, allgemeine Gesetze aufzustellen. Aus den zahlreichen folgenden Versuchen geht die Richtigkeit des Gesagten aber immer wieder hervor.

Versuch 2.

3 Ösen Hefe, 1 Öse Typhus (5 mg-Ösen) in 1 ccm steriler 0,85 proz. NaCl-Lösung bei 37°.

	100	1000	5000	10 000
6 Stunden	_			_
24 Stunden	++	+	_	_
Normaltyphus			+++	+
6 h 2. Impfung	++			

Hier ist das Maximum des Rezeptoren-Verlustes so viel früher eingetreten, daß sich die Agglutinierbarkeit der 24 Stunden lang beeinflußten Bakterien schon in aufsteigender Linie befand und daß die Abimpfung aus der 6 Stunden-Kultur einen wenn auch niederen Titer wieder erlangt hat.

Gelegentlich dieses Versuchs ist durch Kontrolluntersuchung festgestellt worden, daß es auch wirklich die Hefe ist, welche den Rezeptoren-Verlust bedingt. Eine Öse Typhus wurde ohne Hefenzusatz genau ebenso behandelt wie im Hauptversuch. Die nach 6 und 24 Stunden gezüchteten Kulturen hatten normalen Titer.

Versuch 3.

Derselbe Versuch wie 1 und 2 wird noch einmal angestellt, um die einzelnen Röhrchen durch eine größere Zahl von Weiterimpfungen zu verfolgen.

	100	1000	5000	10 000	15 000
6 Stunden	1		++	++	_
24 >	+	_	_		
2 tägig	+++	+++	+++	++	_
3 tagig			+++	+++	+
6 tägig				+++	_
Normaltyphus		1	+++	++	_

Die Fortimpfung des 6 stünd. Röhrchens zeigte schon auf dem zweiten Agar normale Stärke der Agglutination bei 5000 ohne Erhöhung des Titers.

Die Agarübertragungen der Kultur nach 24 stündiger Einwirkung zeigten nur schwankende Stärke der Reaktion ohne Erhöhung durch 16 Generationen hindurch.

Zweitägig blieb bei mehrfachen Übertragungen unverändert. Dreitägig erhielt im Verlauf mehrerer Überimpfungen einen noch weiter über das Normale hinausgehenden Titer:

Drei	tägig.	5000.	10 000.	1 <b>5</b> 000.	20 000.
1	Röhrchen	+++	+++	+	_
2	>	++++	+++	+	+
3	>	+++	+++	_	
4	>	+++	++	++	+
	Normal.	+++	++	_	

Sechstägig änderte auch auf dem zweiten Agar seinen Titer nicht. Die vielfachen Versuche, der Kultur aus 24 stündiger Einwirkung der Hefe die Agglutinierbarkeit wiederzugeben, durch Fortzüchtung durch 16 Generationen war erfolglos; Durchschicken der 13 Generationen durch Bouillon und Fortzüchtung aus dieser ebenfalls.

Nun hoffte ich, dass — wenn unter dem Einflus der Hefe bei längerer Einwirkungsdauer sich der Titer reaktiv herstellt — auch die nachträgliche Behandlung mit Hese zu demselben Ergebnisse führen würde. 1 Öse Typhus aus 24 stündig 7. Röhrchen vom Titer 100++ wurde in der schon angegebenen Weise mit 3 Ösen Hefe drei Tage lang zusammengehalten. Das erste Agarröhrchen, das auf dem Wege über Drigalski-Agar erhalten wurde, hatte auch noch diesen niederen Titer verloren; das zweite Röhrchen stellte sich auf 100+. Auch die Tierimpfung hatte kein besseres Ergebnis. 1 Öse des elften Röhrchens (Titer 100++) wurde einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Das Tier ist vor Ablauf von 15 Stunden eingegangen. Reinzüchtung aus Milz auf Wurtzschem Agar und erster Agarausstrich 100+.

Nur in einem von vielen Fällen hatte ich durch einfaches Alternlassen Erfolg. 24 Stunden zweites Röhrchen (Grenzwert 100+) wurde 38 Tage im Eisschrank gehalten. Der Titer ist danach 5000+++.

So ist hier doch noch bei der Frage der Agglutination auch der agglutinative Beweis für die Identität mit Typhus erbracht, abgesehen von dem kulturellen Beweis und dem, der in dem gradweisen Vorkommen aller möglichen Abschwächungen liegt.

### Versuch 4.

6 Ösen Hefe werden auf 1 Öse Typhus (Ösen su 5 mg) einwirken gelassen. Die Reinsüchtung erfolgt mit Hilfe von Wurtz-Agar, um einen etwaigen Einfluß des Kristallvioletts im Drigalski-Agar auf den Hefe-Typhus der Kontrolle halber auszuschließen. Der Rezeptoren-Verlust erfolgt hier rascher. Die einstündige und die 6stündige Beeinflussung gibt Kulturen mit normalem Grenzwert. Die 3stündige Wirkung der Hefe hat dem Typhus die Agglutinierbarkeit völlig genommen, 1:100—. Erst im dritten Röhrchen wird die Agglutination 100 positiv und wird anch bis zur achten Kultur nicht stärker. Die Wiederkehr des Titers 100 habe ich überall gesehen, auch wodie Agglutinierbarkeit völlig verschwunden war. In diesem Falle hatte ich mit der Tierimpfung einen kleinen Erfolg. Meerschweinehenimpfung in traperit. mit 1 Öse von 3 Stunden 3 Röhrchen; Züchtung aus der Milz mittels Wurtz-Agar. Titer des ersten Röhrchens 1000 +; zweites Röhrchen bennso.

### Versuch 5.

1 Öse Hefe auf 1 Öse (5 mg Ösen) Eberthscher Bazillen ist anscheinend die Grenze der wirksamen Hefemenge. 1, 3, 6 Stunden, 2 und 6 Tage anderten den Titer nicht. 24 Stunden war die Grenze von 10000 auf 5000 zurückgegangen.

#### Versuch 6.

In dieser Reihe sollte erstens festgestellt werden, wie sich andere Stämme gegen Hefe verhalten und zweitens, ob die Erniedrigung der Agglutinierbarkeit auch einem anderen Serum standhält.

In diesem Falle konnte mir nur daran gelegen sein, nach 6 Stunden der Grenzwert zu bestimmen und dann festzustellen, ob bei längerer Einwirkung die Agglutinabilität noch sinkt oder steigt. 3 Ösen Hefe und 1 Öse Typhus à 5 mg.

Stamm	Einwir- kungszeit	100	1000	5000	10000	15000	Normaltiter
- (	6 h	++	_	-	-	- 1	1
H {	1 d (Tag)		++	-			15000++
,	3 d			+++	-	-	
1	6 h			+++	_	-	1
204	1 d		_				15000++
1	3 d			+++		-	,
- (	6 h			++	-	- 1	1
205	1 d		-				15000 +
1	3 d			+++			,
- 1	6 h			+++	-	- 1	1
PH	1 d		++++				} 10000 +
,	3 d			+++	-	-	,
} mq	6 h			+++		-	15000 ++
)	3 d			+++	-	-	1 10000 1 1
- 1	6 h	++++	++++	_	-	-	1
K	1 d		+++	-			10000 +
,	3 d			+++	-	1	,
CI !	6 h			++	-	-	15000 ++
~. (	3 d			+++	-		1
B {	6 h			+++	1 -	- 1	} 5000 ++
-	3 d			+++	-	6	1

Mit Ausnahme des an sich subnormal agglutinierenden, aber auch durch die Züchtung bei 41° unbeeinflußten Stammes B sind alle anderen Stämme mehr oder weniger stark und in zeitlich verschieden verlaufender Kurve in ihrer Agglutinierbarkeit beeinträchtigt worden.

## Versuch 7.

Wie verhalten sich große, aufeinander wirkende Mengen? Je 4 Ösen Typhus H und Hefe zu 5 mgr. werden in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung verrührt und bei 37° gehalten. Der Titer ist unregelmäßig: 3 stündige Einwirkung setzt den Titer von 10000 ++ auf 100 ++ herab, 6 stündige auf 5000 ++; nach 24 Stunden ist das Ergebnis 1000 ++. An dieser Stelle möchte ich etwas vorgreifen, um zu beweisen, daße das Röhrchen 3 Stunden vom Endwert 100 + auch wirklich Typhus ist. Dazu wurde in diesem Falle die Absorption der Agglutinine benutzt. In 1 ccm Serumlösung 1:100 (vom Titer 10000 ++) wurden 2 Ösen der Kultur aufgeschwemmt, 1 Stunde bei

37° gehalten, zentrifugiert und abpipettiert. Von der erhaltenen Flüssigkeit werden Verdünnungen hergestellt, die mit je 1 Öse Normaltyphus beimpft werden. Der Agglutinationswert des Serums ist unter dem Einflufs der zu prüfenden Kultur von 10000 ++ auf 5000 + zurückgegangen, oder es hat ein Verbrauch spezifischer Agglutinine stattgefunden, ein Zeichen für die spezifische Wirksamkeit der zu prüfenden Kultur.

### Versuch 8.

Es war nunmehr noch die Frage zu entscheiden, ob die Veränderung des Agglutinationswertes des Typhus weiter nichts als die Folge der chemischen Zusammensetzung der Hefezelle ist, oder ob die Lebensvorgänge in der Hefe diese Wirkung haben. Es wurden 5 Ösen Hefe durch 1 stündiges Erhitzen auf 60° abgetötet (zur Kontrolle wurden Agarausstriche angelegt, die steril blieben) und mit 1 Öse lebender Typhuskultur (5 mg Ösen) wie bisher gemischt. Eine Reinzüchtung auf Drigalski-Agar konnte hier umgangen werden im Interesse der Gewinnung von Typhuskulturen, die bei kleinen Agglutinationsschwankungen die veränderten Werte möglichst in der ursprünglichen Art festhalten. Es konnte so weiter nichts erreicht werden, als dass der Titer der zweiten Kultur aus 6 stündiger Einwirkung von 10000 ++ auf 5000 +++ sank, und dass beim zweiten Röhrchen aus 24 Stunden und den ersten Agarkulturen nach 2, 3 und 6 tägiger Beeinflussung die Intensität reaktiv auf 10000 + stieg. Die tote Hefezelle ist demnach nicht imstande - soweit sich aus einem Versuch ein Schlufs ziehen läfst - den agglutinativen Wert des Typhusbazillus beträchtlich herabzusetzen.

Auch das gewöhnliche Bakterium coli ist imstande, dem Typhusbazillus die Agglutinierbarkeit ganz oder teilweise zu nehmen. Der Ablauf der Störung, sowie der Reaktion ist analog demjenigen bei Einwirkung von Hefe.

# Versuch 1.

Eine 5 mg. Öse Typhus H und eine 5 mg. Öse Koli V werden in 1 ccm steriler 0,85 proz. Na Cl-Lösung aufgeschwemmt und in den Brutschrank gestellt. Reinzüchtung auf Wurtz-Agar. Es wird hier, wie in allen anderen ähnlichen Versuchen, eine 2 mg. Öse der Aufschwemmung auf die Platte gebracht und mit dem ausgeglühten, zuerst von Caplewski benutzten geknöpften Glasstäbehen nach der Quadrantenmethode von Hirsch bruch und Schwer ausgestrichen. Je länger die Symbiose, desto spärlicher sind die Typhuskolonien vorhanden.

	1:100	1:1000	1:5000	1:10000
6 Stunden	_	_	_	
24	++	+		
2. Röhrchen von 6 Std.				
Normaltyphus		,	+++	+

Das Maximum der Beeinträchtigung ist nach ca. 6 Stunden erreicht, so daß auch die Abimpfung (zweites Agarröhrchen) bei 1:100 noch negativ ist. Nach 24 Stunden ist bereits die reaktive Rezeptorenbildung im Gange. Zur Kontrolle wird eine 5 mg-Öse Typhus allein aufgeschwemmt. Der Titer ist nach 6 Stunden Brutschrank in der ersten Agarkultur unverändert, nach 24 Stunden bei 10000++.

Versuch 2.

Zum Zwecke der Fortzüchtung der nach verschieden langer Einwirkungsdauer erhaltenen Typhus(H)-Varietäten wurde derselbe Versuch noch einmal angestellt. Die Agglutination war nach:

	100	1000	5000	10 000	15 000	20 000
6 Stunden .	_	_	_			-
24		1+++	+++	+ 1		
2d			+++	++1	+	
3d			+++	+++1	_	
6d				1+++1	+	+
Normaltyphus			+++	++		

Die vielfachen Versuche, der Varietät >6 Stunden« die Agglutinierbarkeit wiederzugeben, mögen zuletzt beschrieben werden.

Nach dem vollständigen Verlust der Agglutinierbarkeit des Röhrchens aus sechs Stunden mußte der fast normale Titer von 24 Stunden überraschen. Ich möchte ein Zeichen der noch nicht völlig normal gestellten Rezeptorenausbildung darin erblicken, daß der Titer des zweiten Röhrchens aus 24 Stunden auf 5000+++ gesunken war; drittes Röhrchen 10000+, viertes 10000++.

Die geringe Überproduktion von Rezeptoren aus  $2^d$  (2tägiger Symbiose) war in der zweiten Impfung zurückgegangen während  $3^d$  sich folgendermaßen verhielt:

		10 000.	15 000.	20 000.
1.	Röhrchen	+++		
2.	•	++	+	
3.	•	++	+	+

also zunächst noch eine Steigerung des passiven oder bakteriellen Titers vorhanden war, die weiter bald zur Norm zurückging. Von der 64-Varietät stellte sich bereits der Titer der zweiten Überimpfung normal.

Um der 6-Stunden Kultur die Agglutinierbarkeit wiederzugeben, war es das Nächstliegende, die Fortzüchtung mit täglichem Umstechen auf Agar zu versuchen. Eine Serumlösung 1:100 applutinierte bereits das zweite Röhrchen, das dritte reagierte schon bis 1000; so blieb es bis zur fünften Generation. Dann sank der Titer wieder auf 100, ohne bis zur 19. Generation wieder hoch zu kommen. Mit dem Alternlassen der verschiedenen Röhrchen wurde eine ganz unregelmäßige Wirkung erzielt. Meist änderte sich der Titer nicht. Das 21. Röhrchen wurde 7 Tage. das 20, 11 Tage im Zimmer gehalten; die Agglutinierbarkeit war in beiden Fällen auf 5000 +++ gestiegen. Dieser Grenzwert war aber noch nicht konstant, da die erste Fortimpfung aus dem 20. Röhrchen doch nur bis 1000 + agglutiniert wurde. Der Versuch, durch Tierpassage (Meerschweinchen) eine Steigerung der Agglutinierbarkeit zu erreichen, fiel negativ aus. Durch Mischung ie einer 5 mg-Öse aus dem achten Röhrchen und Koli in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung versuchte ich durch dreitägige Einwirkung nachträglich reaktive Titersteigerung (gewissermaßen eine homöopathische Kur!) vergeblich herbeizuführen. Derselbe Versuch, aber mit Hefe statt Koli, hatte zur Folge, dass die Typhusbazillen im zweiten Röhrchen auch gegen die Serumlösung 1:100 inagglutinabel wurden; im zweiten Röhrchen war 1:100 wieder +++ positiv.

Ein wesentlicher Beweis für die Identität der Kultur aus 6 stündiger Koli-Beeinflussung mit Typhus liegt darin, daß die Varietät agglutinogen ist:

Kaninchen 14. Das Serum des Tieres agglutiniert den Typhus H 1:10 nicht. Von 6 stünd, wird die 18. Agarkultur (Titer 100 gegen Serum 10 000) in 5 ccm steriler Na Cl-Lösung aufgeschwemmt, durch einstündiges Erhitzen auf 60—62° abgetötet und dem Kaninchen subkutan injiziert. Blutentnahme aus der Ohrvene nach 9 Tagen. Das Serum agglutiniert sämtliche Stämme bis zur Verdünnung 1:500 mit Ausnahme des Typhusstammes 205, den es nur bis 100 agglutiniert und des auch sonst schlechter als

normal agglutinablen Stammes B, der selbst 1:100 nicht zusammengeballt wird. Das 6. Röhrchen aus der 6stündigen Koli-Beeinflussung wird auch von diesem Serum 1:500 nicht agglutiniert (Grenze 1:100 + + +). Es wiederholt sich also hier dasselbe bei dem experimentell bis auf einen minimalen Titer herabgedrückten Typhus, was Cole bei dem von Hause aus schlecht agglutinablen Stamme gefunden hat: das nämlich das mit ihm erzeugte Serum den eigenen Stamm geringer agglutiniert als die andern Laboratoriumsstämme. Durch weitere Immunisierung ist der Titer des Serums für normalen Typhus H bis 2000 gestiegen, während das 6. Röhrchen aus der 6stündigen Lymbiose mit Koli nur bis 500 agglutiniert wurde.

# Versuch 3.

Größere, aber gleiche Mengen Koli und Typhus wirken in 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufeinander ein; je 4 ösen zu 2 mg werden aufgeschwemmt. Das Ergebnis ist, daß die Kultur von 3 Stunden den Titer 100 ++ hat, von 6 Stunden ebenso, von 24 Stunden 5000 +++ gegen ein Serum vom Grenzwert 10 000 +++-. Die maximale Beeinflussung liegt hier offenbar zwischen 3 und 6 Stunden. Für den zeitlichen Ablauf der Reaktion ist bei gleichen Stammen Koli und Typhus nicht nur die relative, sondern auch die absolute Menge der in derselben Flüssigkeits. menge aufeinander wirkenden Faktoren von Einfluß, ähnlich wie in dem analogen Versuch mit Hefe statt Koli.

### Versneh 4.

Eine 5 mg.Öse des Koli (V) ist auch imstande, auf 2 große (5 mg Ösen Typhus die agglutinationshemmende Wirkung auszuüben.

	100	1000	5000	10 000	15 000	20 000
1 Std.	+++1	+++	+++	++		_
3 ,	1+++1	+++	+++			
6 >	+	_		-		-
24 ,	++++	++++	++++	++++	+ 1	-
2 d Normal-			+++	++	(Ausfallung total ohne makroskop. Agglutination)	-
typhus			+++	++	_	

## Versuch 5.

In diesem Versuche, in dem ich die 8 Typhusstämme gegen einen Kolistamm (je eine 5 mg. öse) prüfte, welcher frisch aus den Fäces eines Typhuspatienten gezüchtet war, hat 6 stündige Symbiose nur bei 3 Stämmen geringfügige Agglutinierbarkeits-Erniedrigung bewirkt.

# Versuch 6.

Die Fähigkeit, an agglutinativem Wert zu verlieren, ist bei allen acht Typhusstämmen gegen Koli V vorhanden. Bei Benutzung eines Serums vom Titer 15 000 ist die Stärke der Beeinflussung und die Zeit der maximalen Wirkung verschieden.

# Versuch 8.

5 Ösen (zu 5 mg), abgetöteter Koli-Kultur und 1 Öse Typhus H werden in 1 ccm 0,85 proz. Na-Clösung aufgeschwemmt und bei 37° gehalten. Nach 6 und 24 Stunden, sowie nach 2, 3, 6 und 12 Tagen wird jedesmal 1 Öse des Inhalts direkt auf Agar ausgestrichen. Bei Anwendung eines Serums vom Titer 10 000 ++ ist nur bei der Kultur aus 24 Stunden eine Verringerung der Agglutinierbarkeit bis 5000 ++ ++ eingetreten.

Die wirksamste Methode der Steigerung der Virulenz pathogener Bakterien ist die Tierpassage. Pfeiffer und Kolle haben schon 1896 darauf hingewiesen, dass für Choleravibrionen sowohl bei spezifischem wie normalem Serum die Agglutination um so stärker ist, je geringer die Virulenz. Bei der Anwendbarkeit dieses Satzes auf Typhusbazillen ist zu folgern, dass die Virulenzsteigerung z. B. durch Tierpassage mit Erniedrigung des agglutinativen Wertes verbunden ist. Diese Erniedrigung ist in den Bailschen Exsudatbakterien ebensowohl wie in den Versuchen der Autoren und den eigenen oben geschilderten Experimenten zum Ausdruck gekommen. Walker (F. A.) spricht den Satz direkt aus, dass die Typhusbazillen mit größter Agglutinationskraft am wenigsten virulent sind. Die Passagen durch den Froschkörper ändern weder bei Typhus noch bei Cholera die Agglutinierbarkeit. (Kirstein.)

In manchen Fällen steigert bei experimentell sehr erheblich in ihrer Agglutinierbarkeit beeinträchtigten Bakterien die Tierpassage jedoch diese Fähigkeit. Ransom und Kitashima geben an, dafs Choleravibrionen, welche durch Züchtung in spezifischem Immunserum bedeutend an Agglutinierbarkeit gelitten hatten, nach Tierpassage — Meerschweinchen intraperitoneal geimpft — etwas an Resistenz gegen die Agglutinine eingebüßt haben. Die Vibrionen sind also höher agglutinierbar geworden. Bei experimentell beeinflusten Typhusbazillen tritt diese Erhöhung des bakteriellen Titers selten und auch dann nur in geringem Grade ein. Von 4 derartigen Versuchen habe ich nur

einmal in einem Falle, wo Typh. nach 3 Stunden aus Hefe (eine Öse zu 5 mg Typh. gegen 6 Ösen Hefe) gezüchtet war, eine kleine Wertsteigerung durch Tierpassage beobachten können. Das 1. Röhrchen war gegen Serum vom Titer 10000 noch 1:100 negativ, die folgenden hatten 100 + + + als Grenzwert. Mit 1 Öse des 3. Röhrchens wurde 1 Meerschweinchen intraperitoneal geimpft. Die nach dem Tode aus der Milz gezüchteten Typhusbazillen wurden bis 1000 + agglutiniert, während die tägliche Fortimpfung auf Agar durch 9 Generationen den Titer auch nicht vorübergehend über 100 zu bringen vermochte.

Eine Steigerung des bakteriellen Titers ist noch mit Hilfe einiger anderer Methoden erreicht worden. Kirstein hat eine 37°-Kultur des Typhusbazillus eine halbe Stunde lang auf 52° erhitzt; der Wert ist dadurch von 1500 auf 2000 gestiegen. Die 1. Agarimpfung von dieser Kultur, die bei 37° gezüchtet wurde, ist wieder nur bis zur Verdünnung 1:1500 agglutiniert worden. Ferner hat Kirstein mehrmals auf Kartoffeln gezüchtet, die mit 1 proz. Essigsäure behandelt waren, und eine Titersteigerung bis 2200 erreicht, während alkalisch gemachter Kartoffelsaft mit Agar-Agar keine Änderung bewirkte. Bei Züchtung auf alkalisch gemachtem Harnagar — gleich ob der Nährboden CI enthielt oder davon frei war — wurde die 20. Generation bis zur Verdünnung 1:2000 agglutiniert, während die Kontrolle 1000 als Endwert gab.

Da bei der Agglutination Agglutinin (als Substanz gedacht) aus dem Serum heraus verbraucht wird, ist es naturgemäß bei der wissenschaftlichen und unter Umständen auch bei der praktischen Agglutinationsprüfung unerläßlich, die relative Menge des verbrauchten Agglutinins zu bestimmen.

Zur Feststellung dieser Absorptionsmenge werden 2 verschiedene Methoden benutzt, die sich nach dem Zweck des Experiments richten.

 Methode (nach Ehrlich und Morgenroth. Über Hämolysine. V. Mitteilung. Berl. Klin. Wschr. 1901). Jum die Bindungsfähigkeit der Erythrozythen gegenüber dem Immunkörper zu ermitteln, verfährt man, wenn zahlenmäßig genaue

Resultate erzielt werden sollen, am besten folgendermaßen: Man fügt den Blutkörperchen den Immunkörper (auf 56° erwärmtes Hämolysin) zu, zentrifugiert diese nach einer bestimmten Zeit ab und prüft die so gewonnenen klaren Abgüsse auf den noch freien Immunkörper, indem man sie unter Zufügung eines Überschusses von Komplement von neuem auf dieselbe Menge frischer Blutkörperchen einwirken lässt. Führt man auf diese Weise eine längere Versuchsreihe aus, indem man den Blutkörperchen wechselnde Multipla der lösenden Dosis des Immunkörpers zufügt, so kann man deren Bindungsfähigkeit genau bestimmen«. Man ermittelt also das Minimum an Serum, das erforderlich ist, um ein beliebiges, aber in der Versuchsreihe gleichbleibendes Quantum von Erythrozyten aufzulösen; dasselbe Quantum an Erythrozyten wird mit der einfachen Menge Serums und steigenden Dosen, die alle mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur gleichen Gesamtmenge aufgefüllt sind, in den Brutschrank gestellt; nach irgend, einer Zeit wurden sämtliche Röhrchen nochmals mit roten Blutkörperchen versetzt, um festzustellen, in welchen Röhrchen noch wirksames Hamolysin Rest geblieben ist. An diesem Prinzip ändert auch die Inaktivierung des Serums und nachträgliche Zufügung von Komplement zum dekantierten Serumrest nichts, wie Ehrlich den Versuch in praxi gestaltet hat, weil für sein Vorgehen lediglich der Grund praktischer Erkennung restlicher Hämolyse bestimmend gewesen ist.

Nach Ehrlichscher Methode läßt sich vortrefflich auch bei der Agglutination die Menge der von demselben Stamm aus verschiedenen Serumkonzentrationen gebundenen Agglutinine bestimmen. Im Prinzip analog oder mit geringen Abweichungen haben Castellani, Joos, P. Th. Müller die völlige Agglutininbindung und die Bestimmung der Agglutininabsorption vorgenommen.

2. Methode: Bei der Prüfung verschiedener Stämme erscheint es zweckmäßig, anders vorzugehen. Meines Wissens ist Cole, der unter Wassermanns Leitung arbeitete, der Einzige, der bisher in dieser Weise experimentierte. Er hat in je 10 ccm einer Serumlösung 1:100 je 2 Ösen der verschiedenen Typhusstämme eingetragen und nach gleichlangem Aufenthalt im Brutschrank zentrifugiert und dekantiert. Von den einzelnen Abgüssen der Serumlösungen wurden dann, wie bei der einfachen Agglutination, Verdünnungen hergestellt und in üblicher Weise der (restliche) Agglutinationstiter bestimmt. Nach dieser Methode habe auch ich in der später noch zu schildernden Weise die Absorptionsverhältnisse verschiedener Varietäten des Typhusstammes H geprüft.

Eisenberg und Volk haben bei ihren Versuchen die zweite Methode noch dahin geändert, daß sie den restlichen Agglutinationswert für verschiedene Serumverdünnungen bestimmten, den Agglutininverbrauch berechneten und das Verhältnis der absorbierten Agglutininmenge zur Anzahl der in jeder Verdünnung vorhanden gewesenen Agglutinineinheiten der Absorptionskoeffizienten nennen.

Mit Hilfe der qualitativen und der quantitativen Absorptionsmethode sind die Autoren (bes. Joos II. Teil, Z. f. Hyg., Bd. 40) dahin gelangt, die Agglutination als Symptom einer chemischen Verbindung aufzufassen, die statthat zwischen der agglutinierenden Substanz im Serum und der agglutinablen Substanz im Bakterienleibe unter Eintritt von Salz zu einer Art Doppelverbindung. Bordet hatte schon 1899 gefunden, daß in absolut salzfreier Aufschwemmung keine Agglutination eintritt, obwohl das Agglutinin des Serums gebunden wird. Nolf, Levaditi und Joos haben die Angabe bestätigt; und schließlich haben Eisenberg und Volk noch ermittelt, daß das Salz nicht nur durch seine Anwesenheit etwa katalytisch wirkt, sondern aus dem Serum verbraucht wird und an der Bildung der agglutinierten Substanz beteiligt ist.

Erst seit Bordet weiß man, daß ein spezifischer Agglutininverbrauch ohne Eintritt der sichtbaren Agglutination stattfinden kann. Die Agglutininbindung ohne Agglutination kann aber auch bei Anwesenheit von Salz eintreten, wenn die agglutinable Substanz etwa durch Erhitzen über 58° oder mit schwacher Salzsäure vorbehandelt ist, die vor Anstellung der Probe genau neutralisiert wird (Eisenberg und Volk, Wassermann). Die

21

Ansichten über die Hitzebeständigkeit der agglutinablen »Substanz« sind geteilt; einige meinen, dass die Eigenschaften in hohem Grade hitzebeständig sind. (Nicolle; Defalle sah Verlust erst bei 115°, Aaser schon bei 65°.) Die Wahrheit dürfte hier in der Mitte liegen, weil es m. E. auf die Art des Erhitzens ankommt. In einem Falle wurde eine Aufschwemmung von Typh. H im Reagierglase über der offenen Flamme des Bunsenbrenners rasch aufgekocht bis zum starken Hochsteigen der Flüssigkeit. Gegenüber dem Serum eines Kaninchens, das mit abgetöteter Kultur des durch Koli beeinflußten Typhusstammes vorbehandelt war, vom Titer 2000 reagierten diese gekochten Typhusbazillen noch bis 1000. In einem andern Falle, in dem die Aufschwemmung langsam auf 80° erwärmt wurde und 1/2 Stunde zwischen 80° und 85° gehalten wurde, war der Titer von 10000 auf 100 gesunken, in einem dritten gleichartigen Versuch war sogar 1:10 negativ (auch 1:100 und 1:1000 negativ).

Auf Grund ihrer Ergebnisse nehmen Eisenberg, Volk sowie Wassermann an, dass die agglutinierbare Substanz im Typhusbazillus aus zwei Gruppen besteht, einer bindenden und einer spezifisch agglutinierbaren. Die erstere ist resistenter gegen Schädigungen (Hitze, Säure), die zweite labiler.

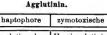
Da die bindende Gruppe schon allein im Agglutinin ihren Rezeptor findet, muß man auf der Grundlage der Ehrlichschen Anschauung auch annehmen, daß inagglutinable Bakterien mit erhaltenen haptophoren Gruppen im Tierexperiment agglutinogen sind. Die Richtigkeit dieser Erwartung hat Kirstein bewiesen: Der bei 37° farblose Prodigiosus ist nicht agglutinierbar, absorbiert aber Agglutinin und veranlaßt im Tierexperiment gleichstarke Agglutinibildung wie der agglutinierbare farbige Prodigiosus; das durch Impfung mit farbloser Prodigiosuskultur erzielte Serum agglutiniert wieder nur den farbigen Stamm.

Beim Agglutinin werden ebenfalls zwei Gruppen unterschieden. Ehrlich hatte nach dem Effekt eine haptophore und zymotoxische Gruppe der Agglutinine angenommen.

Bail hat durch Erwärmen eines Serums auf 75° den bindenden Anteil, den »Agglutinophor«, von dem die Reaktion be-

dingenden, dem Hemiagglutinin« getrennt. Wenn ein Typhusbazillus mit Agglutinophoren besetzt ist, dann ist er für fertiges Agglutinin unangreifbar. Die Agglutinophore können aber durch freie Hemiagglutinine ergänzt werden: Die Agglutination ist der sichtbare Effekt der Ergänzung. (Die Bildung der beiden Gruppen im Peritoneum des mit großen Kulturmengen von Typhus infizierten Meerschweinchens ist zeitlich unabhängig voneinander. So erklärt Bail wenigstens die verminderte Agglutinierbarkeit der Exsudatbakterien, die er nach später als 3 Stunden aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens gezüchtet hat, durch Bindung mit überschüssigen Agglutinophoren und anderseits die Fähigkeit der früher entnommenen Essudatflüssigkeit, freie Agglutinophore zu ergänzen durch Überschus an Hemiagglutinin.)

Gleichzeitig mit Bail haben Eisenberg und Volk dieselbe Folgerung gezogen, daß das Agglutinin aus zwei Gruppen besteht. Sie gehen ganz besonders von dem Gedanken aus, daß die Hemmungszone bei starken Konzentrationen hochwertiger Sera bedingt ist durch die Anwesenheit freier bindender Gruppen, haptophorer Gruppen, wie sie dieselben nennen, und belegen ihre Meinung durch Mitteilung einer Reihe von Experimenten. Diese Hemmungszone fanden sie bei einem alten Serum und konnten sie bervorrusen bzw. verbreitern durch Erhitzen des Serums. Ansäuern, Zusatz von Alkali, Formol, gesättigte Harnstofflösung. Sie nennen die freie haptophore Gruppe Agglutinoide und dieses, wenn es in einem Serum neben fertigem Agglutinin vorkommt, »Synagglutinoid«. Dabei nehmen sie für die Agglutinoide an, daß diese eher als das komplette Agglutinin an den Rezentor des Bakteriums herantreten und deshalb eine mit der Konzentration zunehmende Hemmung bewirken. Wassermann ist der Ansicht, dass bei gleichzeitiger Anwesenheit von Agglutinin und Agglutinoid die Bindung der Rezeptoren mit dem einen oder anderen ganz unregelmäßig verläuft. Bei der schwankenden Nomenklatur sei die Benennung durch die Autoren schematisch skizziert; bemerkt sei, dass Wassermann sich an die Benennung durch Eisenberg und Volk hält, denen ich mich anschliefse.



Gruppe

Bail Agglutinophor Hemiagglutinin

Clsenberg u. Volk | haptophore | agglutinophore |
Agglutinoid | , wenn allein,

Ehrlich

Synagglutinoid, wenn gleichzeitig neben vollständigem Agglutinin.

# Agglutinable Substanz (s. Rezeptor).

(8. Rezeptor).

Agglutinable haptophore Gruppe

Zur Anstellung der verschiedenen Absorptionsversuche wurde ein mir durch Herrn Prof. Kolle gütigst zur Verfügung gestelltes Pferdeimmunserum vom Titer 10000 + + + benutzt und von mir die Konzentration 1:100 für die Versuche gewählt. Meine Absicht war einmal, durch kleine Rezeptorenmengen nicht schon eine völlige Absorption des Agglutinins hervorzurufen, wie das bei schwächeren Konzentrationen der Fall ist, anderseits aber nicht allzuviel Typhusmaterial nötig zu haben, — wie es bei reinem Serum oder bei der Verdünnung 1:10 erforderlich gewesen wäre — weil um der Exaktheit des Versuchsresultats willen ein und dasselbe Agarröhrchen die erforderliche Bakterienmenge sowohl für die Feststellung des Bakterientiters wie für den Absorptionsversuch hergeben mußte.

Für jeden Kubikzentimeter der Serumverdünnung 1:100 (3 ccm wurden jedesmal in einem Zentrifugenröhrchen verwendet) habe ich zunächst in einem Vorversuch 1 Öse zu 2 mg von einer normalen Agarkultur des Typhusstammes H (Titer 10000) zugesetzt und 1 Stunde im Brutschrank gelassen. Es war starke Agglutination eingetreten. Das Röhrchen wurde dann sehr vorsichtig zentrifugiert, weil Furnkawa festgestellt hat, daß das Filtrieren, aber auch das Zentrifugieren des Serums imstande ist, den größten Teil des Globulins zu entfernen. Die überstehende Flüssigkeit wurde dekantiert und nußte makroskopisch unagglutiniert erscheinen; es ist aber micht erforderlich, wie Kontrollversuche ergeben haben, daß die Flüssigkeit klar sein mußs. Mit diesem

Restserum wurden Verdünnungen hergestellt, die in üblicher Weise mit je einer Öse Normaltyph. in 1 ccm auf 1 Stunde in den Brutschrank kamen. Der Titer des Serums war von  $10\,000+++$  auf  $5\,000+(1000+++)$  herabgegangen. Das genügte nicht. weil für schlechter agglutinierbare Stämme ein größerer Spielraum für den Agglutininverbrauch freigebalten werden sollte.

Deshalb wurde ein zweiter Vorversuch angestellt, in dem pro ccm Serumverdünnung 2 Normalösen Typhus zugesetzt wurden. Der Titer des Serums ging dadurch von 10000 + + + auf 100 + + + herab. Nach diesem Modus war für schlechter Agglutinin bindende Varietäten eine Breite der Reaktionserniedrigung von 100 bis 10000 gegeben. Von den verschiedenen Varietäten des Typhusstammes H wurden demnach 2 Normalösen pro ccm der Verdünnung 1:100 desselben Serums eingetragen; nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde vorsichtig zentrifugiert und abgegossen. Mit den Verdünnungen der erhaltenen Flüssigkeit wurde dann die Agglutinationsprüfung vorgenommen, indem in je 1 ccm 1 Normalöse des Normalstammes aufgeschwemmt wurde.

Je geringer die Bindungsfähigkeit der betreffenden Varietät ist, desto höher muß natürlich der Agglutinationswert des Restserums geblieben sein. Ohne Kenntnis der agglutinationsmindernden Ursache hat mit verschiedenen Stämmen von ungleichem passiv-agglutinativem Titer Cole Untersuchungen mit folgendem allgemeinem Ergebnis angestellt:

»Die größere Agglutinationsfähigkeit ist mit größerer Bindekraft für Agglutinine verbunden« oder im Sinne von Eisenberg und Volk sowie Wassermann »die schwerere Agglutinationsfähigkeit ist verbunden mit einer Verminderung in der Anzahl der Rezeptoren.«

Einige Versuchsergebnisse von Eisenberg und Volk sowie Wassermann weichen so völlig von diesem allgemeinen Gesetz ab, dass Wassermann für schwer oder nicht agglutinierbare Stämme die Forderung aufstellt, an Stelle des Agglutinationsversuchs die Absorptionsprüfung vorzunehmen.

Sie hatten, wie schon erwähnt, gefunden, das Typhusbazillen, die ½ Stunde auf mehr wie 58° erhitzt waren, nur noch 1:2 durch ein hochwertiges Serum (45000) agglutiniert wurden; daß aber diese Bakterien aus der Konzentration 1:2 nur  $^2/_5$ , 1:10 schon  $^5/_6$  und aus schwächeren Verdünnungen ebensoviele Agglutinienheiten zu absorbieren vermögen wie normale vollagglutinable Typhusbazillen.

Die Präparation der Typhusbazillen mit Säure schafft ganz analoge Verhältnisse.

Mit Typhus, der durch Aufenthalt in Serum in seiner Agglutinierbarkeit geschädigt worden, habe ich einige Absorptionsversuche angestellt. Leider ist das Serum trotz hohen Wertes nicht in dem Maße wie das früher beschriebene imstande, die Typhusbazillen ihrer Agglutinierbarkeit zu berauben.

In der Serumverdünnung 1:10 wird eine 2 mg. Öse Typhus aufgeschwemmt und nach verschieden langem Aufenthalt im Brutschrank mit der Öse auf Agar übertragen. Die 24 Stunden alten Kulturen werden zur Prüfung der Agglutination und der Absorption benutzt.

							100	1000	5000	10000
					8	) A	glutination.			
Nach	3	Std.	-	Auf im		balt um	+++	+++	+	_
	b)	Absor	rpi	tions	res	dı	rch 2 Ösen	in 1 ccm	1:100).	
Nach	1	Std					1+++	1+++1	_	
,	3						+++	1+++	+	_

Der schwächeren Agglutination entspricht die geringere Absorption und demnach der höhere Agglutinierrest A. R. Diese zwei Reihen sind sowohl unter sich wie besonders mit dem A. R. von Normaltyphus und mit den noch folgenden Angaben über weitere eigene Versuche direkt vergleichbar. Paul Th. Müller hat bei seinen Untersuchungen über Züchtung im Gemisch von agglutinierendem Serum und Bouillon unter Benutzung der ersten Prüfungsmethode für Agglutininrest dasselbe Resultat erzielt. Mit dieser Verminderung der Agglutinierbarkeit geht aun aber gleichzeitig auch eine Verminderung der agglutinin-bindenden Kraft Hand in Hand.

Es mufs aber erwähnt werden, dass auch einmal die gegenteilige Meinung ausgesprochen wurde.

Cholera hat nach Züchtung in Serum-Bouillon 1:100 (Serum vom Grenztiter 1000) durch 20 Generationen seine Agglutinierbarkeit bis herab zur Verdünnung 1:50 verloren. Die 20. Generation und derselbe Stamm aus Bouillon wurden 24 Stunden lang in Serum-Bouillon 1:100 gezüchtet. Der Normaltyp war völlig agglutiniert, der andere gar nicht. Der Inhalt der beiden Röhrchen wurder zentrifugiert, die abgegossene Flüssigkeit auf das vierfache Volum verdünnt und mit Normalkultur versetzt. In beiden trat keine Agglutination ein, ein Zeichen, daß die Agglutinine in beiden verbraucht sind (Ransom und Kitashima). Die Frage ist hier nicht entschieden, wo die obere Grenze des Agglutininverbrauchs bei beiden liegt, und wie viel mehr Agglutinin — so läßt sich vermuten — der höher agglutinierbare Normalstamm verbraucht hat

Die Koinzidenz von mangelnder Agglutinierbarkeit und Unfähigkeit zur Agglutininbindung ist auch bei den Exsudatbakterien Bails gefunden worden. Bail schreibt darüber ganz allgemein, die Ausfällungsversuche hätten ergeben, dass die Typhusbakterien im Meerschweinchenexsudate inagglutinabel sind, weil die Agglutinine eines Immunserums nicht imstande sind, sie anzugreifen.

Sehr charakteristisch ist ein Fall, bei dem ich ein Meerschweinchen mit einer großen Menge (ganze Agarkultur) Typhus H intraperitoneal geimpft habe. Der Tod trat vor Ablauf von 15 Stunden ein. Aus dem Aszites und aus der Milz wurden die Typhusbazillen auf Drigalski-Agar reingezüchtet. Der Übersicht halber sei auch die Absorption mit dem Normalstamm noch einmal angegeben:

		100	1 1000	1 5000	10000
		a) Agglutii	nation.		
Aus Aszites		+?		_	-
Milz .		+++	+++	_	_
Normaltyphus		+++	++++	+++	++-

	100	1000	5000	10000
b) Agglutininrest	nach der Ab	sorption (	Ösen in	1 : 100).
Aus Aszites , Milz Normaltyphus .	. ++++	+++	+++	++

Je höher der bakteriell-agglutinative Titer, desto größer der Agglutininverbrauch und desto geringer der Agglutininrest nach der Absorption, oder, die Abnahme des Agglutinationswertes geht einher mit der Abnahme in der Zahl der Rezeptoren.

Dasselbe ist der Fall bei einer Typhuskultur, die auf Agar bei 42° gezüchtet wurde. Ich mache noch besonders aufmerksam auf die zahlenmäßige Übereinstimmung mit jeder zweiten Reihe der vorstehenden Tabelle (Züchtung aus Milz).

	1	1	1	1
	100	1000	5000	10000
(	. !!	a) Agglu	tination.	
	+++1	++	-	
Kultur von 42°	1	b) Agglu	tininrest	
		U) Aggiu	tillini cot.	

Zur Prüfung, wie sich der durch andere Mikroorganismen in seiner Agglutinierbarkeit geschädigte Typhusbazillus verhält, wurden in 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung (0,85%) je 4 Ösen à 2 mg Typhus und Hefe von Agarkulturen aufgeschwemmt und in den Brutschrank gestellt. Die Reinzüchtung des Typhus erfolgte nach verschiedenen Zeiten durch Ausstrich auf Drigalskiagar. Von je einer Kolonie wurde auf Bouillonagar übergeimpft und diese Kultur nach 24 Stunden zur Agglutination und Absorption benutzt.

a) Agglutination.  3 Stunden +			100	1000	5000	10000
3 Stunden + 6 + + + + + + +		a)	Agglutin	ation.		
6 ,   +++   +++   +   -	3 Stunden		1	_		_
			1 1			
	Normaltyphus .	.   +	-+-	+++	+	

		100	1000	5000	10000
		b) Agglutin	inrest.		
3 Stunden .		+++	+++	+	-
6 .		+++		-	-
Normaltyphus		+++	_	_	-

Das entsprechende Resultat wurde durch Kolischädigung erzielt (je vier 2 mg-Ösen Typhus und Koli von 24 stündigen Agarkulturen in 1 ccm steriler Na Cl-Lösung):

-		_					
				100	1000	1 5000	1 10000
				a) Aggluti	nation.		
3	Stunden			1 ++	- 1	-	_
6	•			++	-		_
24	•	٠	٠	++++	++++	+++	_
				b) Agglutin	ninrest.		
3	Stunden			1+++	1+++	+++	1++-
6	,			1+++	+++	+++	+
24	•			+++	_	_	
					1		

Aus dieser letzten Versuchsreihe geht deutlich hervor, daß auch die reaktive Steigerung des agglutinativen Titers einhergeht mit der Vermehrung der Bindungsfähigkeit für Agglutinin. Dieser Umstand beweist, daß das Verschwinden oder Sinken der Agglutinierbarkeit nicht auf einer Änderung in der Beschaffenheit der Rezeptoren beruht, die etwa dadurch nicht mehr zu den Agglutininen passen, sondern nur auf einer Änderung in der Zahl der Rezeptoren: Zerstörung bedingt hier reaktive Vermehrunganalog der erhöhten Bildung von Immunkörpern aller Art im Tierkörper bei anfänglichem Verbrauch durch bakterielle und andere Gruppen, denn der Bakterienkörper ist eben ein Lebewesen, das auf Schädigungen wie jedes andere in diesem spezifisch biologischen Sinne reagiert.

P. Th. Müller ist es nicht gelungen, durch Züchtung von Typhusbazillen in agglutininenthaltendem Serum die Typhusbazillen zur Erzeugung von Antiagglutininen anzuregen: Wassermann tritt ihm bestätigend bei. Müller hatte nämlich, ganz im Sinne des gleich zu besprechenden Bailschen Gedankenganges, unabhäng von ider Höhe des Agglutinationsphänomens, eine Erhöhung der Bindungsfähigkeit vermutet. Er schreibt: Es hatte also bei diesen Versuchen, ganz im Gegensatz zu dem, was man — die Anwendbarkeit der Ehrlichschen Prinzipien auf die einzelligen pflanzlichen Organismen vorausgesetzt — hätte erwarten sollen, nicht nur keine Vermehrung der agglutinibindenden Rezeptorgruppen an den Typhusbazillen, sondern sogar eine ganz erhebliche Verminderung stattgefunden.

Zunächst ist es richtig, dass eine Reaktion des Typhusbazillus auf spezifische Agglutinine nur in der Art und Weise erfolgen kann, wie Müller annimmt, nämlich durch vermehrte Bildung von Rezeptorgruppen.

Für die theoretische Möglichkeit der Erscheinung: keine Agglutination und erhöhte Agglutininbindung ist die Bailsche Auffassung beweisend:

>Entweder sind die Agglutinine des Typhusimmunserums überhaupt nicht imstande, die Exsudatbakterien anzugreifen; dann dürfen sie auch durch Berührung mit denselben nicht aufgebraucht, nicht gebunden werden. Oder aber, es ist die Wirkungslosigkeit des Immunserums nur eine scheinbare: dann müßten die Bakterien eine ungewöhnlich starke Bindungskraft für Agglutininen besitzen, so daß die Anwesenheit einiger weniger Bakterien genügen würde, um die Wirksamkeit des Serums zu erschöpfen, wonach natürlich dann alle anderen Bakterien unbeeinflußt bleiben würden.

Der Gedankengang ist unbedingt richtig; ich habe eine ungewöhnliche Erhöhung der Bindungsfähigkeit nie beobachtet, sondern im Gegenteil gefunden, daß bei den auf die verschiedenste Weise experimentell in ihrer Agglutinierbarkeit geschädigten Typhusbazillen auch die Bindungsfähigkeit für Agglutinine geringer ist, als normal.

Für einzelne Arten der Herabsetzung der bakteriellen Agglutinierbarkeit habe ich weiter oben schon eine später eintretende reaktive Erhöhung des passiven Titers beschrieben. Aber auch für die Beeinflussung durch Agglutinin ist es unzutreffend, daß das Bakterium keine Antikörper — in diesem Falle also Rezeptoren — produziert. Zwei kleine Tabellen mögen das beweisen.

Eine 2 mg·Öse Typhus wird in 1 ccm lmmunserum (Titer 10000) Verdünnung 1:10 aufgeschwemmt. Nach verschieden langem Aufenthalt im Brutschrank werden mit der Öse Ausstriche auf Agar angelegt, die nach 24 Stunden zur Untersuchung kommen.

	100	1000	1 5000
Nach 1 Stunde .	1 -	_	_
. 6 Stunden .	1+++	_	_
24 , .	+-?		
→ 3d · · ·	++	+	_
> 6d	1 -	-	_

Aus dem zeitlichen Verlauf der Agglutination geht hervor, das nach 6 Stunden das Agglutinin des Serums nicht etwa aufgebraucht war und nun eine neuerliche Rezeptorenbildung auftrat, da ja nach 6 Tagen noch genügend Agglutinin vorhanden war, um von neuem Agglutinierbarkeitserniedrigung zu bewirken.

Unter dem ersten Einfluss des Serums werden die Rezeptoren gebunden und auch die Typhusbazillen, die auf dem beimpsten Agar wachsen, gewinnen die Agglutinierbarkeit noch nicht wieder. In einer zweiten Phase der Einwirkung tritt eine Rezeptorenvermehrung auf unter dem Reiz des Agglutinins, die in einer dritten Phase — der Erschöpfung — eingestellt wird. Verbrauch, Reaktion, Erschöpfung!

Bei der Durchführung des Versuchs mit der Verdünnung 1:1000 kommt es nicht zum Eintritt der dritten Phase. Im folgenden Versuch stammen die Agarkulturen aus der Verdünnung 1:1000 desselben Serums:

				1 100	1 1000	1 5000	1 10000
1	Stunde		,	1+++	+		-
6	Stunden			+	+	+	-
24	,				+++	++	+ -
3	d				++	+++	++

Bei den vorliegenden Untersuchen interessiert es uns nicht, ob im Tierkörper Serum-Antikörper gegen Agglutinine gebildet werden können. Ein solches Serum müßte imstande sein, in Mischung mit agglutinierendem Serum den Eintritt der Agglutination von hinzugefügten Bakterien zu verhindern. Bisher ist der Versuch mißlungen, ein solches Antiserum gegen bakterienagglutinierendes Serum herzustellen. Unmöglich ist die Bereitung aber nicht; es kommt eben darauf an, eine Tierart zu finden, in deren Blut sich die entsprechenden Rezeptoren für Typhusagglutinin vorfinden. Für Hämagglutinine ist es Ford unter Wassermanns Anregung und Anleitung gelungen, ein Antiserum herzustellen

Nach P. Th. Müllers Auffassung findet bei den in ihrer Agglutinierbarkeit durch Agglutinin geschwächten Typhusbazillen eine wirkliche Verminderung der Rezeptoren statt, nicht etwa eine Abstoßung an das Kulturmedium. Das letztere wäre ja immerhin denkbar, zumal Wassermann (auch Robert Kochs Name ist hier als vorahnenden Beraters zu nennen) nachgewiesen hat, eine wie große Anzahl abgestoßener Rezeptoren erforderlich ist, um einen sinnfälligen Agglutininverbrauch zu bewirken. Trotzdem trete ich Müllers Ansicht bei, weil ich mir wohl einen Typhusbazillus vorstellen kann, der unter äußerem Einfluß verschieden intensiv Antikörper bildet, aber keinen, der sie bald gut, bald schlecht zu fixieren vermag.

Wenn Müller dagegen den Rezeptorenverlust mit der natürlichen Immunität des Huhns gegen Tetanustoxin vergleicht und Paltauf den Vergleich akzeptiert, — nein! der Unterschied ist doch gar zu groß. Nach Müller reagieren im Reagierglase auch die Blutkörperchen gegen Aalblut hochimmuner Tiere nicht mehr gegen diese hämolytische Noxe. (Kossel, Camus et Gley.) Wenn hier wirklich nicht etwa Antikörper vorhanden sind von größerer Bindungsfähigkeit für Aalblut — wie ich doch auf Grund des biologischen Reaktionsgesetzes annehmen möchte — dann könnte man sich diesen Vergleich gefallen lassen.

Auf eine an sich sonderbare Erscheinung muß ich noch einmal zurückkommen, das Zusammentreffen von verminderter Agglu-

tinierbarkeit mit Rezeptorenverringerung. Je geringer die Rezeptorenzahl, desto geringer der Agglutininverbrauch. Je geringer aber wieder der Agglutininverbrauch, desto höher müßste doch eigentlich der Agglutinationstiter sein!

Dies Phänomen kann ich im Sinne der Ehrlichschen Theorie nur folgendermaßen erklären:

Bordet hat die Vielheit der Bakterienagglutinine im normalen Pferdeserum und Malkoff hat die Multiplizität der normalen Hämagglutinine bewiesen (d. h. im normalen Pferdeserum sind es besondere Agglutinine, die z. B. Cholera und besondere, die etwa Typhus zusammenballen).

Ehrlich und Morgenroth (dritte Mitteilung) haben darüber hinaus gezeigt, daße es eine große Anzahl von differenten Isolysinen gibt und ebenso eine Vielheit verschiedener Antikörper in einem mit den roten Blutkörperchen einer Art erzeugten hämolytischen Serum. Es kommen eben bei den roten Blutkörperchen nicht eine einzige Gruppe, sondern eine große Zahl von verschiedenen Gruppen in Betracht, die, passende Rezeptoren vorausgesetzt, eine entsprechende Anzahl von Immunkörpern erzeugen können, die wiederum alle von den zur Immunisierung verwandten Blutkörperchen verankert werden. Wir dürfen annehmen, daß, wenn eine Tierspezies A mit den Blutkörperchen einer Spezies B immunisiert wird, ein hämolytisches Serum entsteht, das eine ganze Schar von Immunkörpern enthält, welche insgesamt von den Blutkörperchen der Gattung B verankert werden. (Sechste Mitteilung.)

Diese plurimistische Betrachtungsweise hat Durham auf die Bakterienagglutinine angewendet. Da mir das Original nicht zugänglich ist, möge hier der Gedankengang in der Darstellung von Ehrlich und Morgenroth wiedergegeben werden. Durham nimmt eine Anzahl von »Komponenten« (entsprechend unseren Rezeptoren) in der Körpersubstanz der Bakterien an, die eine entsprechende Anzahl von Agglutininen anslösen können, so daß jedes auf eine bestimmte Bakterienart wirkende Agglutininganz analog der von uns angenommenen Vielheit der Immunkörper eine Summe verschiedenartiger Einzelagglutinine darstellt.

Diese Anschauung erlaubt Durham, eine zureichende ungezwungene Erklärung der variierenden Stärke der Einwirkung von Typhusagglutininen auf verschiedene Stämme von Typhusbazillen und der Ausdehnung der Agglutination durch spezifische Sera auf verwandte Bakterienarten.

Wassermann hat spezielle Untersuchungen an Kolistämmen angestellt. Bekannt ist schon, daß ein und dasselbe agglutinierende Serum sich verschiedenen Kolistämmen gegenüber auch verschieden verhält. Wassermann vermutete nun, daß— wenn ein Kolistamm verschiedene agglutinable Substanzen enthält — diese in verschiedenen Tierarten verschiedene Rezeptoren vorsinden müssen, so daß die einzelnen Immunsera auch verschiedenartige Partialagglutinine enthalten müssen. Wenn das der Fall ist, müssen aber die einzelnen Sera auch verschiedene Kolistämme mitagglutinieren. Diese Vermutung bestätigte sich. Die Immunisierung erfolgte mit Stamm Koli 1; die Prüfung des Serums in der Verdünnung 1:100:

das Kaninchenserum agglutinierte die Kolistämme 1, 10. 14.

- > Meerschweinchenserum nur den Stamm 1.
- » Serum einer Taube die Stämme 1. 7.

Durch die Partialagglutinine findet auch das Phänomen des herabgesetzten agglutinativen Titers trotz erniedrigten Agglutininbedarfs seine Erklärung. Die einzelnen Partialrezeptoren gehen m. E. verschieden schwer in Verlust, so daß ein Stamm, dessen Titer von z. B. 10 000 auf 1000 erniedrigt ist, nicht ½,10 von jedem Partialrezeptor enthält, sondern einen oder mehrere in voller Menge und wieder andere gar nicht oder gering. Diese Partialrezeptoren finden aber nur in einem konzentrierten Serum noch die erforderliche Menge von Partialagglutininen, um mit ihnen Agglutination zu geben. Die zahlreichen andern Partialagglutinine des verdünnten Serums können auf diese Bazillen gar nicht wirken, weil den Bazillen die entsprechenden Rezeptoren fehlen.

Es muss zunächst gelingen, den Wert eines hochagglutinierenden Serums mit Hilfe der spezifischen Absorptionsmethode durch die schlecht agglutinable Varietät so weit herabzusetzen, daß sie bei dem Verdünnungsgrade nicht mehr agglutiniert werden, bei welchem das nicht beeinflusste Serum sie noch prompt agglutiniert. Tabelle:

	100	1000	1 5000	10000
	a) Aggluti	nation.		
Normaltyphus .	 1+++	++++	+++	++-
42°-Typhus	 +++	++	-	

b) Nach Ausfällung mit 2 Normalösen 42° Kultur pro ccm Serum 1:100.

Gegen Normaltyphus +++ +++ ++

42° Typhus . ++ - -

Mit Hilfe der 420-Kultur kann also der Titer sowohl für die 42 % Kultur wie für Normaltyphus herabgesetzt werden, und es ist ohne Experiment klar, dass durch weiteres Eintragen der 420 Kultur schliefslich ein Zustand erreicht werden kann, bei dem das Serum die 42 °-Varietät nicht mehr, den Normalstamm aber noch bis zu einem gewissen Grade agglutiniert.

Endlich darf nach Absorption der im Serum vorhandenen Partialagglutinine, die zu den Rezeptoren der 42°-Kultur passen, der allgemeine Wert des A. R. durch 42° Kultur nicht weiter erheblich gemindert werden können. Kleine Abschwächungen sind möglich, weil noch nicht der Beweis dafür erbracht ist, daß die vorzugsweise beseitigten Partial-Rezeptoren auch bis auf den letzten Rest geschwunden sind.

Äufsere Umstände haben mich gehindert, diesen Versuch anzustellen.

## Ergebnisse.

- 1. Eine große Zahl von Einflüssen ist imstande, die Agglutinierbarkeit des lebenden Typhusbazillus herabzusetzen, nämlich:
  - I. physikalische: Auswaschen, Züchtung bei hoher Temperatur (Fieberwärme 40-41 °C), Züchtung bei sehr niedriger Temperatur, nachträgliche Erwärmung der bei 37º gewachsenen Kultur bis dicht unterhalb der Abtötungsgrenze:
  - II. chemische: Karbol-, Sublimat-, Malachitgrünzusatz zum Nährboden:

- III. biologische: Altern der Kultur, Erschöpfung durch häufige rasche Umzüchtung;
- IV. tierische: Aufenthalt im normalen Tier (Exsudatbakterien, Milzbakterien etc.) oder im immunisierten Tier.
- V. spezifische: Aufenthalt in agglutinierendem Serum; Züchtung in agglutinierendem Serum;
- VI. symbiotische: Einwirkung von Hefe; Einwirkung von Bact, coli comm.
- Herabsetzung der Agglutinierbarkeit lebender Typhusbazillen geht in allen untersuchten Fällen einher mit verringerter Agglutininabsorption oder — im Ehrlich schen Sinne — mit Verminderung in der Anzahl der Rezeptoren.
- 3. Die Annahme von Partialrezeptoren beim Typhusbazillusdie verschieden leicht in Verlust gehen und von entsprechenden Partialagglutininen im Serum erklärt in einfacher Weise die Tatsache der Agglutinierbarkeitserniedrigung trotz verringerten Agglutininbedarfs.
- Wiederkehr und Steigerung der Agglutinierbarkeit des Typhusbazillus gehen einher mit Steigerung des Agglutininverbrauchs, id est Vermehrung der Rezeptorenzahl.
- 5. Alternlassen, Überimpfen und Tierpassage sind unsichere Hilfsmittel zur Wiederherstellung des Titers in ihrer Agglutinierbarkeit geschädigter Typhusbazillen. Der Erfolg ist abhängig hauptsächlich von der Art des schädigenden Eingriffs.
- Bei der Wiederkehr der Agglutinierbarkeit von experimentell geschädigten Typhusbazillen tritt bisweilen eine vorübergehende Steigerung des agglutinativen Titers über die Norm ein.
- Es gibt eine Gewöhnung (erworbene Immunität) des Typhusbazillus gegen verschiedene die Agglutinierbarkeit herabsetzende Einflüsse.
- Die Kurve der Schädigung und der Restitution der Agglutinierbarkeit verläuft in folgenden Phasen:
  - a) Sinken des Titers = Minderung der Rezeptoren (durch Verbrauch);

- b) Steigen des Titers = reaktive Vermehrung der Rezeptoren:
- c) Sinken des Titers = Erschöpfung der Rezeptorenproduktion.

Infolge schädigender Einwirkung kommen alle drei Phasen oder a und b, oder nur die erste im Reaktionsverlauf vor.

- 9. Bei dem regelmäßigen Zusammentreffen von schlechter Agglutinierbarkeit und verringerter Agglutininabsorption bei lebenden Typhusbazillen erscheint es unzweckmäßig (nach Wassermanns Vorschlag), bei schlecht agglutinierbaren Stämmen an die Stelle der Agglutination die Absorptionsprüfung zu setzen.
- 10. Mit einem experimentell erheblich in seiner Agglutinierbarkeit beeinträchtigten Typhusbazillenstamm läst sich ein Serum herstellen, das den normalen Stamm höher agglutiniert als die zur Serumbereitung benutzte schlecht agglutinable Varietät.
- 11. Zur Prüfung schlecht agglutinabler typhusverdächtiger Bakterienstämme empfiehlt es sich, an die Stelle der Agglutinationsprobe die Prüfung der Agglutinogenität zu setzen.
- 12. Bei Benutzung eines hochwertigen Serums spricht das Vorhandensein eines hohen agglutinativen Titers für die Diagnose Typhus« bei einer verdächtigen Kultur; mangelnde oder schlechte Agglutinierbarkeit, sowie die Unmöglichkeit, dem Stamm innerhalb praktisch brauchbarer Zeitdauer die Agglutinierbarkeit anzuzüchten, spricht nicht gegen Typhus.

## Literatur.

- Aaser, Über die makroskopische Agglutinationsprobe bei Typhus. Berl. klin. Wschr., 1905, S. 256.
- Achard et Bensaude. Sur l'agglutination des divers échantillons du bacille d'Eberth etc. Compt. rend. de la Société de Biologie, 1896, p. 940.
- Asakawa, Über das Wesen der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., 1903, Bd. 45.

- 338 Experimentelle Herabsetzung d. Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus.
- Bail. Versuche über Typhus Agglutinine und Präzipitine. Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 42, S. 70.
- 5. Bancel. De la non-agglutinabilité primitive ou de la moindre agglutinabilité de quelques bacilles d'Eberth provenants de l'organisme. Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. tome 4. Nr. 3.
- Baumgarten. Beitrag zur Lehre von der natürlichen Immunität. Arb. a. d. Tübinger pathol. Institut. Bd. 3, 1899.
- Bordet. Le mécanisme de l'agglutination. Annal. de l'Inst. Past. 1899, T. XIII, p. 225.
- Camus et Gley. Recherches physiol. sur l'action du sérum d'anguille etc. Arch. de pharmakodyn. 1897.
- 9. Dieselben. Comptes rend. de la Société de Biol. 1901. Nr. 25. p. 732.
- 10. Dieselben. . . de l'Académie des sciences. Bd. 123, p. 231.
- 11. Dieselben. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899, Bd 13, p. 779.
- Cole. Über die Agglutination verschiedener Typhusstämme. 1904.
   Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, S. 367.
- Craw. On the mechanism of agglutination. Journal of hygiene. Referat von C. Fraenkel in Hyg. Rdsch. XV, p. 254.
- Defalle. Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902, p. 595.
- v. Drigalski und Conradi. Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39, 1902, p. 283.
- 16. Dubois. Sur la dissociation des propriétés agglutinante et sensibilatrice.
- v. Dungern. Beiträge zur Immunitätslehre. Münch. med. Wschr. Nr. 20.
- Durham. Journ. of experim. Medicine. Newyork 1901, Bd. 5, Nr. 4.
   zit. nach Ehrlich u. Morgenroth.
- Ehrlich und Morgenroth. Zur Theorie der Lysinwirkung. Berl. klin. Wschr. 1899.
- Dieselben. Über Hämolysine. III. Mitteilung. Berl. klin. Wschr. 1900. Nr. 21.
- 21. Dieselben, do, IV. Mitteilung. Berl. klin. Wschr. 1900. Nr. 31.
- 22. Dieselben. do. V. Mitteilung. Berl. klin. Wschr. 1901, Nr. 10.
- 29. Dieselben. do. VI. Mitteilung. Berl. klin. Wschr. 1901. Nr. 21 u. 22.
- Ehrlich und Sachs. Über die Vielheit der Komplemente des Serums Berl. klin. Wschr. 1902. Nr. 14 u. 15.
- Eisenberg und Volk. Untersuchungen über die Agglutination. Ztschr. f. Hyg., 1902, Bd. 40, S. 155.
- Ford. Beitrag zur Lehre von den Hämagglutininen. Ztschr. f. Hyg., 1902.
   Bd. 40. S. 363.
- Furukawa. Agglutination und Salzgehalt. (Mitteil. der med. Gesellschzu Tokio.) Deutsches Referat.
- Gotschlich. Kapitel über: Allgemeine Morphologie und Biologies in Kolle & Wassermann: Handbuch d. pathog. Mikroorg. Bd. 1, S. 121.
- Harrison. The agglutinating substance. C. f. B., l. Abt., Bd. 30, 1901, 8, 115.

- Hirsch bruch und Schwer. Pröfung des Typhusnährbodens nach v. Drigalski und H. Conradi und einer nach ähnlichen Prinzipien hergestellten Bouillon. Hyg. Rdsch., Bd. 13, 1903, S. 864.
- Johnston and Mac Taggart. The condition of test Cultures etc. Brit. med. Journ. 1898, Vol. I, p. 360.
- Joos. Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination.
   Ztschr. f. Hyg. Bd. 36, S. 422 und Bd. 40, S. 203.
- 33 Jörgensen und Madsen. Dänische Mitteilungen des Universitäts-Laborat. etc. Kopenhagen. zit. nach Baumgartens Jahresber.
- Kirstein. Über Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien insbesondere von Typhusbazillen. Ztschr. f. Hyg. Bd. 46, 1904, 8. 229.
- 35 Kolle. Zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis. D. m. Wschr. 1897, Nr. 9, S. 132.
- Kossel. Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Berl. kl. Wschr. 1898, Nr. 7, 8, 152.
- Lentz und Tietz. Eine Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbazillen. Münch. med. Wschr., 1903, S. 2139.
- Lesieur. Journ. de physiol. et pathol. gén. 1902, p. 155. zit. nach Paltauf >Agglutination in Kolle-Wassermanns Handbuch d. pathog. Mikr.
- Levaditi. L'action des sels sur l'organisme au point de vue de la génèse des propriétés agglutinatives. Compt. rend. de la Soc. de Biol., 1899, S. 757.
- Löffler. Malachitgrünagar des Löfflerschen Instituts. Ärzte-Verein, Greifswald, 9. Mai. D. m. Wschr., 1903, S. 286.
- Malkoff. Beitrige zur Frage der Agglutination der roten Blutkörperchen. D. m. Wschr., 1900, S. 229.
- Malvoz. Recherches sur l'agglutination du Bacillus typhosus par des subst. chimiques. Ann. de l'Inst. Past., 1897, p. 582.
- Metschnikoff. 1. Sur l'influence des végétaux inférieurs sur les toxines. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1897. p. 592. 2. Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1897. p. 801.
- Müller, Paul Theodor. Über die Immunisierung des Typhusbazillus gegen spezifische Agglutinine. Münchn. med. Wschr., 1903, S. 56.
- Nicolle. Recherches sur la substance aggiutinée. Ann. de l'Inst. Past., 1898.
- Derselbe. Sur la substance agglutinée des Bactéries. Normandie méd., 1898, août
- Nicolle et Trenel. Recherches sur le phénomène de l'agglutination.
   Ann. de l'Inst. Pasteur., 1902, p. 562.
- Pavone. Sulla concorrenza vitale fra il Bacillo del Tifo ed il Bacillo del Carbonchio. Giorn. internaz. delle science mediche, 1887.
- Paltauf. Agglutination in Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

22 \*

- 340 Agglutinierbarkeit beim Typhusbazillus. Von Dr. Albert Hirschbruch.
- Pfeiffer und Kolle. Weitere Untersuchungen über die spezifische Immunitätsreaktion der Choleravibrionen im Tierkörper und Reagensglase. C-Bl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 20, 1896, S. 129.
- Pfuhl. Untersuchungen über die Entwicklungsfähigkeit der Typhusbazillen auf gekochten Kartoffeln bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kolibazillen und Bakterien der Gartenerde. C-Bl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 26, 1899, S. 49.
- Ransom und Kitashima. Untersuchungen über die Agglutinationsfähigkeit der Choleravibrionen durch Choleraserum. D. med. Wach., 1898, S. 295.
- 53. Remy. Bacille typhique des eaux. Ann. de l'Inst. Past., 1901.
- Rullmann. Über das Verhalten des im Erdboden eingesäten Typhusbazillus. C.-Bl. f. Bakt. Abt. I, Bd. 38, 1905, S. 380.
- Sacquépée. Variabilité de l'aptitude agglutinative du Bacille d'Eberth.
   Ann. de l'Inst. Past., 1901, p. 249.
- Tarchetti. Sul valore della sierodiagnosi nell'infezione tifoide.
   Clinica medica ital., 1899, Nr. 1, p. 16.
- Van de Velde. Etude sur les résultats négatifs etc. Bull. de l'Acad.
   R. de méd. de Belgique, 1897, Nr. 3, p. 261.
- Walker, E. W. Ainley. Immunisation against immune serum. Journ. of Pathol. and Bact. Vol. VIII, 1902, Nr. 1. Referat v. Krumbein in C.-Bl. f. Bact. Ref.-Bd. 32, p. 115.
- Walker, F. A. Antityphoid Sera. Journ. of. Pathol. and Bact. Vol. VII. 1901, nach C.-Bl. f. Bact., 1902, Ref.-Bd. p. 605.
- Wassermann. Über Agglutinine und Präzipitine. Ztschr. f. Hyg., Bd. 42, S. 267.
- Widal et Sicard. La réaction agglutinante sur les bacilles morts. Compt. rend. de la Soc. de Biol, 1897, p. 116.
- Wurtz. Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. T. IV., p. 85 u. 383 (nach v. Drigaleki u. H. Conradi).

# Einiges über den Einflus der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen.\*)

Von

#### Oberarzt Dr. Viktor K. Rufs.

Assistent am bakteriologischen Laboratorium des k. u. k, Militärsanitätskomitees,

Die großen Umwälzungen auf den verschiedensten Gebieten des medizinischen Wissens, welche durch Röntgens Entdeckung hervorgerufen wurden, lenkten naturgemäß auch die Aufmerksamkeit der Bakteriologen auf diese unsichtbaren Strahlen und bewirkten, daße eine Reihe von Untersuchungen angestellt wurde, um deren Einfluß auf Mikroorganismen zu prüfen, besonders nachdem bekannt geworden war, daße einerseits lebende Zellen unter der Strahlenwirkung bedeutend geschädigt würden, anderseits bei einzelnen Erkrankungen parasitärer Natur sichere therapeutische Erfolge zu erzielen seien.

Speziell die letzteren Mitteilungen regten zu Versuchen an, in vitro zu beweisen, was in vivo konstatiert wurde. Die angestellten Untersuchungen erstreckten sich auch auf umfangreiche Tierexperimente, um bessere Schlüsse auf die praktische Verwertbarkeit der X-Strahlen ziehen zu können.

Uns interessierten vorläufig nur die mit Reinkulturen vorgenommenen Versuche.

<sup>\*)</sup> Nach einem Vortrage, gehalten am 13. März 1905 im wissenschaftlichen Verein der Militärärzte in Wien.

Man begegnet bei Durchsicht der Literatur vollständig entgegengesetzten Anschauungen, indem ein Teil der Autoren gar keine, ein anderer Teil hingegen eine sichere bakterizide Wirkung der Röntgenstrahlen nachgewiesen zu haben glaubt. Es sei ein kurzer Auszug aus den bisher veröffentlichten Arbeiten gestattet:

Berton¹) fand bei seinen Untersuchungen, daß weder Wachstumsenergie noch Virulenz der Diphtheriebazillen durch X-Strahlen zu beeinflussen sei.

Mink²) legt von einer 3 Tage alten Typhuskultur in Bouillon Agarplatten an, indem er je eine Öse Kultur in einer Platte möglichst gleichmäßig verteilt. Dann wurden die Schalen ohne Deckel durch 30 Minuten in 10 cm Entfernung exponiert, während dessen der eine Plattenteil durch ein 3 mm dickes Bleikreuz und eine desinfizierte Hartgummiplatte bedeckt war, also durch Röntgenstrahlen nicht getroffen werden konnte. Nach Ablauf der Belichtungszeit wurden diese Platten wie Kontrollen in den Brutschrank gesetzt.

Schon nach 14 Stunden zeigte sich, dass die Platten ganz gleichmäsig an allen Stellen mit Millionen Keimen bedeckt waren.

Verfasser führt diesen Miserfolg auf zu große Aussaat zurück und sucht dem durch einen weiteren Versuch, der aber auch in demselben Sinne wie der erste ausfiel, zu begegnen, trotzdem die Expositionszeit sogar verlängert worden war.

In einer weiteren Arbeit<sup>3</sup>) publiziert derselbe Autor Untersuchungsergebnisse, wobei selbst 2—8 stündiges Bestrahlen ohne jeden Einfluß war und spricht daher den Röntgenstrahlen auf Grund seiner Erfahrungen jede bakterizide Wirkung und therapeutische Verwendbarkeit ab.

Beck und Schultz<sup>4</sup>) stellen ihre Versuche mit einer Reihe von farbstoffbildenden Bakterien und mit B. coli an. Sie exponieren Agarplatten, zum Schutze gegen Luftverunreinigung bei vollständig bestrahlbarer Oberfläche nur mit Papier bedeckt, durch 20—150 Minuten in einer Entfernung von 25 cm von der Röhre.

Wachstum und Farbstoffentwicklung erlitten durch die Bestrahlung nicht die geringste Einbuße. Wittlin<sup>5</sup>) experimentiert im Gegensatze zu Mink nur mit Kulturen in flüssigen Nährböden und zwar von B. coli, B. typhi, B. diphteriae, Staphylococcus pyog. aureus, V. cholerae, Tyrothrix tenuis Ducleux.

In Röhrchen aus sehr dünnem Glas, halbgefüllt mit 2% steriler Peptonbouillon, wird eine Öse Stammkultur überimpft und im Brutschranke bei 37° C gehalten. Nach vollkommener Entwicklung der Kulturen wird ein Tropfen einem Röhrchen mit flüssiger Gelatine beigefügt, eine Zählplatte gegossen und diese bei 22° C gehalten. Dann wurden die Peptonbouillonkulturen durch eine Stunde in der Entfernung von 15 cm vom Bogen der Fokusröhre eines Funkeninduktoriums von 20 cm Funkenlänge exponiert. Nachher wird wie früher von jedem Röhrchen eine Gelatineplatte gegossen und nun beobachtet.

Der Vergleich der Platten, gegossen vor und nach der Belichtung, ergab für Typhus, Cholera, Tyrothrix, Diphtherie in beiden Fällen die gleiche, für Koli und Staphylokokken sogar eine vermehrte Keimzahl bei den Kontrollplatten — was wohl auf eine größere Vermehrung in der Zwischenzeit zurückzuführen ist.

Weiter fand Verfasser, dass die Röntgenstrahlen keine Veränderung der sterilen Peptonbouillon bewirken. Auch Wittlin spricht den X-Strahlen jede Einwirkung auf Bakterien ab.

Wade<sup>6</sup>) berichtet auf Grund seiner Untersuchungen, daß Tuberkelbazillen eine Bestrahlung ohne Einfluß auf ihre weitere Entwicklungsfähigkeit ertragen.

Labrazès und Rivière<sup>7</sup>) schließen ihre Arbeit über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Prodigiosus mit dem Satze: »Ce microbe s'est montré indifférent aux radiations de Röntgen«. Verfasser hatten eine Gelatinekultur in 15 cm Abstand durch 20 Tage hindurch je 1 Stunde bestrahlt.

Blaisie und Sambuc<sup>8</sup>) wollen nach 15 Minuten währender Einwirkung einer 20 cm vom Testobjekt entfernten Röntgenröhre eine Herabsetzung der Farbstoffbildung für die nächsten Tage und eine Formverkürzung bei Pyocyaneus in Bouillonkultur bemerkt haben, während Anthrax sich als nicht geschädigt erwies. Pott<sup>9</sup>) bestrahlt Tuberkelbazillenkulturen bei sehr genauer Versuchsanordnung, ohne irgendeinen Verlust an Wachstumsenergie konstatieren zu können.

Rieder <sup>10</sup>) untersucht eine Reihe von Mikroorganismen unter Anwendung verschiedener Methoden bezüglich ihrer Resistenz gegen die Einwirkung von Röntgenstrahlen.

Bei allen Experimenten wählt er  $10~\mathrm{cm}$  Entfernung zwischen Objekt und Röhre.

- a) Versuche mit frischen Bakterienaussaaten.
- Cholerakeime werden in eben noch flüssigen Agar verimpft, zur Platte ausgegossen, durch 45 Minuten bestrahlt — wobei die Platte ohne Glasdeckel, aber mit einem breiten Bleiring bedeckt war — und dann in den Brutofen gestellt. Nach 24 Stunden zeigt sich die Platte entsprechend dem Ausschnitt frei von Kolonien — auch mikroskopisch während an den geschützten Stellen zahllose Kolonien angegangen waren.

Auch an einer oberflächlich mit Cholerabouillonkultur beschickten Agarplatte, die wie oben exponiert wurde, wuchsen im Gegensatze zu den Randpartien an der dem Ausschnitte entsprechenden Stelle nur wenige große Kolonien.

- Gelatineplatten mit B. coli beschickt und 1 Stunde bestrahlt zeigen nach 36 Stunden, bei 21° gehalten, zentral, also an der exponierten Stelle, bedeutend geringere Keimzahlen.
- Platten mit Staphylococcus pyogenes aureus bieten ein ähnliches Bild wie die früher erwähnten, selbst nach kürzerer Bestrahlung.
- Streptokokken nach 40 Minuten Exposition zeigen wohl wegen der zu kurzen Expositionszeit eine doch merkliche aber nicht so deutliche Wachstumserhemmung.
- Diphtheriebazillen auf Blutserumplatten wachsen nach 1 Stunde Bestrahlung nur in wenigen Kolonien, entsprechend dem Ausschnitt.
- 6./7. Typhus- und Anthraxbazillen verhalten sich ebenso.

- b) Wirkung auf bereits entwickelte Kolonien:
- Choleravibrionen werden in Agar verimpft, dieser zur Platte ausgegossen, und nun bis zur Entwickelung kleinster Kolonien gewartet, dann 48 Minuten unter Anwendung obiger Methode bestrahlt und in den Brutofen gestellt. Das Resultat war ganz negativ.

Weiters goße Verfasser angegangene Bouillonkulturen in mit Papier überdeckte Schälchen, von denen das eine etwas abseits, also nicht im ganzen Strahlenbereich gelegen war, aus, das andere aber voll getroffen werden mußte, und exponierte nun 2 Stunden. Von jedem Schälchen wurden post expositionem Gelatineplatten mit verschiedenen Verdünnungen gegossen. Die Platten vom zweiten Schälchen blieben steril, während die aus dem ersten hergestellte Originalplatte nur spärliche, deren Verdünnungen jedoch gar keine Kolonien zeigten. Auf einer aus unbestrahlter Kultur hergestellten Platte waren reichlichste Kolonien angegangen.

2. Gelatinplatten mit B. coli wurden nach 24stündigem Aufenthalt bei 21° durch 1 Stunde bestrahlt, dann wieder bei obiger Temperatur gehalten; am nächsten Tage zeigen sich an der dem Ausschnitt gegenüberliegenden Stelle nur ca. <sup>1</sup>/<sub>2</sub> mal so viel Kolonien, wie an den geschützten Randpartien. Die Weiterentwicklung schon gewachsener Kolonien wurde nicht, wohl aber die Bildung von neuen gehindert.

Wurden in oben angeführter Weise Bouillonkulturen von Koli durch 2 Stunden bestrahlt und dann zu Gelatineplatten — je drei für bestrahlte und unbestrahlte Kulturen hergestellte Verdünnungen — verarbeitet, so ergab sich zwischen den beiden Serien eine nicht unbedeutende Differenz der Keimzahlen zugunsten der unbestrahlten Kulturen.

Mit Tuberkelbazillen wurden die Experimente folgendermaßen angestellt:

8 Gläschen wurden mit sterilem Fleischextrakt-Glyzerin-Pepton gefüllt und mit einem dünnen Häutchen einer frischen Tuberkelbouillonkultur geimpft, davon 4 Röhrchen in einer zu Boden gesenkt hatte, im vierten nur eine Spur von

Wachstum zu sehen war.

Verfasser erklärt diesen Versuch nicht ganz einwandfrei. Als Schlußsätze faßt der Autor zusammen, daß Bakterien nach ca. einstündiger Bestrahlung zugrunde gehen, wobei sowohl Einfluß von Wärmestrahlen auf die Mikroorganismen als auch chemische Wirkungen auf Nährböden — ersteres wegen der minimalen Temperaturerhöhung der Röhre, letzteres wegen leicht erreichbaren Wachstums von Keimen bei späterer Übertragung auf den früher bestrahlten und steril gebliebenen Plattenpartien — als Ursache auszuschließen seien.

Rieder erklärt als Grund seiner von den Angaben der meisten Autoren abweichenden Resultate, den Umstand, daß er seiner Meinung nach viel intensiver bestrahlte, überhaupt eine geeignetere Versuchsanordnung gewählt habe.

Wolfender und Forbes Rofs<sup>11</sup>) finden für Prodigiosus ähnliches, wie Labrazès und Rivière, wenn auch bei variierter Versuchsanordnung.

Zeit<sup>12</sup>) konstatiert, daß selbst empfindliche Bakterien, in Bouillon oder in Hydrokelenflüssigkeit gezüchtet, auch bei 48stündiger, desgleichen deren Agarkulturen bei 4 Stunden Expositionszeit und nur 20 mm Röhrenabstand in keiner Weise beeinflußt werden. Auch tuberkulöses Sputum, durch 6 Stunden derart bestrahlt, ruft nach darauffolgender Injektion bei Tieren Miliartuberkulose hervor.

Verfasser kommt zu dem Schlusse, dass die Röntgenstrahlen nicht bakterizid wirken und die klinischen Resultate vielleicht auf Bildung von Ozon, unterchloriger Säure, Nekrose der tieserliegenden Hautschichten, Phagocytose usw. beruhen dürften. Sormani 13) kann bei seinen Untersuchungen mit einer Reihe von Mikroorganismen desgleichen nicht den geringsten Einflus der Röntgenstrahlen auf Wachstum und Lebensäußerungen wie auf die Virulenz der Bakterien konstatieren.

Scholtz<sup>18</sup>) berichtet ebenfalls über Versuche, die er bezüglich des Nachweises der Baktericidie durch Röntgenstrahlen angestellt hatte. Sowohl bei einmaliger, 1 Stunde währender Exposition von Typhus-, Cholera- und Pyocyaneusoberflächenkulturen, wie auch bei fraktionierter Bestrahlung von Trichophytonaussaaten war kein Absterben der Mikroorganismen zu selben.

Desgleichen verlief ein Experiment, wobei schon ausgewachsene Kulturen von Typhus-, Kolibazillen und Staphylokokken einer Bestrahlung unterzogen wurden, ohne jeden hemmenden Einfluß auf die Keimentwicklung. Bei allen Versuchen wurden weiche Röhren in 10 cm Abstand verwendet. Ebenso konnte Freund<sup>14</sup>) nachweisen, daß Mikroorganismen nicht durch Röntgenstrahlen abgetötet wurden, daß jedoch, wenn man die elektrischen Entladungen nicht zweckentsprechend ableite, diese das Wachstum nicht gestatten.

Ein Überblick über die angeführten Berichte zeigt uns, daß der größere Teil der Autoren sich der Ansicht anschließt, Röntgenstrahlen übten keine entwicklungshemmende oder aufhebende Wirkung aus.

Im folgenden sollen nun die von uns angestellten Versuche und deren Ergebnisse geschildert werden.

Nachdem wir nun aus zahlreichen Berichten wissen, dafs die X-Strahlen im lebenden Gewebe — also dem natürlichen Nährboden für pathogene Mikroorganismen — einschneidende Veränderungen, die bis zur Zerstörung gehen können (Röntgendermatitis) hervorzurufen vermögen, so lag der Gedanke nahe, dafs sie auch in den gröfstenteils aus organischen Substanzen bestehenden Nährmedien, die in der Bakteriologie in Verwendung gezogen werden, Verschiebungen molekularer Natur bewirken, wodurch die zweckdienliche Brauchbarkeit der Substrate vermindert würde. Natürlich kommen nur solche chemische oder physikalische Veränderungen in Betracht, die sich in einem verbesserten oder verschlechterten Wachstum und abweichenden

biologischen Eigenschaften der darauf ausgesäten Keime äußern, wahrscheinlich also nur grobe Umsetzungen.

Da nun die gebräuchlichen Nährböden sehr stark von den natürlichen abweichen, so war das Augenmerk auch auf solche zu richten, die den Verhältnissen in vivo am nächsten stehen, d. s. Blut und Organteile.

Erst nachdem man sich überzeugt hatte, das auf bestrahlten Substraten Bakterien ebenso gedeihen wie auf unbestrahlten, konnte man daran gehen, die etwaige bakterizide Wirkung der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen selbst zu prüfen.

Vorerst sei hier kurz eine Schilderung der verwendeten Apparate gegeben, die Herr Dr. Gustav Kaiser in der liebenswürdigsten Weise uns in seinem Institute (Wien, Währingerstraße 25) zur Verfügung stellte, wofür ihm hier der beste Dank ausgesprochen sei.

Den Strom lieferte die öffentliche Beleuchtungsanlage als Gleichstrom von 110 Volt Spannung.

Als Unterbrecher wurde ein »Quecksilber Turbinenunterbrecher« mit einer Leistungsfähigkeit von ca. 1500 Unterbrechungen in der Sekunde verwendet.

Das Induktorium, ein Apparat von 55 cm Funkenlänge, vermochte einen Sekundärstrom von ca. 300000 Volt Spannung zu erzeugen. Die benutzte Röhre war eine regulierbare« der Firma Müller in Hamburg.

Bei sämtlichen Versuchen wurden sowohl »harte« wie »mittelharte« und ganz »weiche« Röhren gearbeitet, die in Entfernungen von 10—30 cm senkrecht über dem Testobjekt aufgestellt waren.

Die festen Nährmedien wurden als Platten in Petrischen Schalen, die flüssigen teils in diesen, teils in ganz flachen Kulturkölbehen geprüft.

Die Zeit der Bestrahlung schwankte zwischen ½ Stunde und 2 Stunden. Ferner fand auch eine ›fraktioniertec Belichtung Anwendung, indem die Objekte durch 8 Tage hindurch täglich 1 Stunde exponiert, in der Zwischenzeit aber bei 3°C gehalten wurden.

Da es bekannt ist, daß gewöhnliches Glas in bedeutendem Grade Röntgenstrahlen zu absorbieren vermag, so mußte man, um die volle Intensität einwirken lassen zu können, die Nährmedien mit unbedeckter Oberfläche bestrahlen, wobei die Gefahr einer Luftverunreinigung durch Bedecken mit einem Blatte sterilen Papiers ausgeschaltet wurde. Diese Methode bietet auch noch den Vorteil, etwa vorhandene geringste Mengen von ultravioletten Strahlen zu eliminieren.

Ein Schutz gegen Wärmestrahlen ist infolge der minimalen Erzeugung derselben nicht notwendig.

Um vergleichende Versuche anstellen zu können, war natürlich die Wahl einer geeigneten Kontrolle wichtig.

Sehr gut hat sich auch hier die von anderer Seite verwendete Methode mit Bleiplatten bewährt.

Bei den festen Nährmedien wurden die Platten halbseits mit ca. 1 mm dicken Bleiplatten belegt, während bei den flüssigen eine zweite, analog der zu prüfenden Quantität behandelte, jedoch vermittelst einer Bleikappe geschützte Probe als Kontrolle diente.

Damit man ganz sicher gehe, daß die Kontrollen außerhalb jeder Strahlenwirkung liegen, wurde unterhalb der Tischplatte, auf der die Objekte standen, ein Fluoreszenzschirm angebracht, an dem man die schützende Wirkung des Bleies stets beobachten konnte. Diese Anordnungen gelten nicht nur für die Versuche über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Nährböden, sondern auch auf Bakterien.

Geprüft wurden a) an festen Medien:

- Gelatine, 2. Agar, 3. Glyzerinagar, 4. Traubenzuckeragar,
   Agar nach Drigalski-Conradi, 6. Neutralrotagar, 7. Serumagar,
   Löfflerserum, 9. erstarrtes steriles Kaninchenblut ohne das dazugehörige Serum,
   Brei aus steriler Kaninchenmilz.
  - b) An flüssigen:
- Peptonwasser, 2. Bouillon, 3. Milch, 4. steriles Kaninchenserum, 5. defibriniertes Kaninchenblut.

Sämtliche Nährböden wurden vor der Bestrahlung nach 12—15 stündigem Aufenthalte im Brutofen (Gelatine natürlich ausgenommen) auf ihre Sterilität geprüft.

Nach der Bestrahlung nahmen wir die Impfung derart vor, das wir die Platten mit einem geringen Quantum Kulturmaterial beschickten, das dann möglichst gleichmäsig über die ganze Oberfläche verstrichen wurde.

Um dies zu erreichen, schwemmten wir eine Ose einer 24 stündigen Agarkultur in 10 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung auf, filtrierten diese Emulsion durch sterile Papierfilter, um eine Bröckelbildung zu vermeiden und übertrugen 1 Öse des Filtrates auf die Platte. Die Emulgierung geschah in physiologischer Kochsalzlösung, damit kein unbestrahltes Nährsubstrat auf das zu prüfende bestrahlte Medium gerate.

Die flüssigen Nährböden wurden ebenfalls mit einer Öse der Emulsion beschickt.

Das Resultat wurde durch genaue Keimzählung ermittelt, wobei natürlich die Zahlen auf der bestrahlten und unbestrahlten Plattenhälfte in Betracht gezogen wurden.

Das Wachstum in den verschiedenen Flüssigkeiten mußte durch Anlegen von Zählplatten (1 Öse in 10 ccm eben noch flüssigen Agars) sowohl von bestrahlten wie geschützten Proben konstatiert werden.

Nach der Bestrahlung kamen sämtliche Nährböden in den Thermostaten (Gelatine in den Gelatinschrank bei 22°) bei 37° und wurden nach gewissen Zeiträumen — 12, 24, 48, 72, 96 Stunden — kontrolliert.

Um auch geringe Schwankungen im Nährsubstrat nachweisen zu können, wurde auf deren Spezifität für einzelne Mikroorganismen nach Tunlichkeit Rücksicht genommen, wodurch die Möglichkeit gegeben war, bei einer Versuchsreihe eine große Zahl morphologischer Eigenschaften beobachten zu können.

Die Tabellen I und II auf S. 251 geben über die Anordnung der einzelnen Experimente Aufschlufs.

Zu den Bemerkungen in der Rubrik »Anmerkung« der Tabellen sei noch erwähnt, daß auch das Aussehen der Kolonien von bestrahlten wie geschützten Substraten vollkommen gleich war, daß man ferner in Präparaten tinktoriell desgleichen zwischen den zwei Kulturserien keine Unterschiede wahrnehmen konnte und

endlich Übertragungen auf andere Medien von beiden Koloniengruppen anstandslos gelangen und auch an diesen keine Schädigung (Herabsetzung der Farbstoffbildung etc.) zum Ausdrucke kamen.

Tabelle I. Feste Nährbäden.

_		reste Nanro	rucu.		
	Nährboden		Keimza 24 St	hl nach unden	
Nr.		Impfmaterial	be- strahlt. Teil	Kon- trolle	Anmerkung
1	Gelatine	B. pyocyaneus	830	342	Farbstoffbildung u. Verflüssigung gleichartig (Keim- zählung nach 48h)
2	Agar	B. anthracis	183	170	Deutliche Sporenbil- dung im Beginnen
3	Glyzerinagar	B. diphtheriae	285	293	
4	Traubenzuckeragar	B. tetani	59	61	Bei anaerober Kul- tur
5	Drigalskiagar	B. typhi	123	119	Kolonien deutl. blau
6	Drigalskiagar	B. coli com.	97	104	Kolonien deutl. rot
7	Neutralrotagar	B. typhi	132	141	Keine Entfärbung
8	Neutralrotagar	B. coli com.	187	199	Deutliche Entfär- bung u. Fluoreszenz
9	Serumagar	Gonokokken	29	23	
10	Löfflers Serum	B. diphtheriae	127	142	
11	Erstarrtes Kanin- chenblut	Staphyl. pyog. aur.	121 7551m	113 latten	Deutlich, heller Hol um jede Kolonie
12	Kaninchen-Milz- brei*)	Staphyl. pyog. aur.	329	820	din jede molenie

Tabelle II. Flüssige Nährböden. (Zählplatten.)

Nr.	Nährboden	Impfmaterial	Keimzahl nach 24 Stundeu		Keimzahl nach 96 Stunden	
		Impimaterial	be- strahlt	Kon- trolle	bestrahlt Kontrolle	Anmerkung
1	Pepton wasser.	V. cholerae	1320	1300	unzählige Keime	
2	Bouillon	B. dysenteriae	3290	3185	unzählige Keime	
3	Milch	B. acidi lactici	2870	2790	unzāblige Keime	Milch fest geronnen
4	Kaninchen- serum	B. anthracis	1935	2007	unzählige Keime	
5	Defibriniertes Kaninchen- blut	Staphyl. pyog. aur.	4720	4655	unzählige Keime	Starke Auf- lösung der roten Blut- körperchen

<sup>•)</sup> Hergestellt durch Verreiben einer steril entnommenen Milz eines gesunden Tieres in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Um eine etwaige Verminderung des Virulenzgrades von Kolonien auf bestrahlten Medien zu prüfen, wurden einige Tierversuche angestellt.

Tabelle III.

		Injektionsmaterial	Tod	nach	
Nr.	Tier	bestrahlt und Kontrolle	be- strahlt	Kon- trolle	Anmerkung
1	Maus	1 ccm Peptonwasserkultur (24 stünd.) von V. cholerae intraperitoneal	17h	181/ <sub>g</sub> h	Kontrolltier mit 1 ccm sterilen Peptonwassers bleibt am Leben
2	Maus	1/10 ccm Kaninchenserum- kultur (24 stünd.) von B. anthracis intraperitoneal	12h	11h	Kontrolltier mit 1/10 ecm sterilen Kaninchen- serums bleibt am Leben
3	Meer- schwein- chen	Aufschwemmung einer Kolonie von Diphtherie in 1 ccm physiol. Kochsalz- lösung subkutan	52h	545/4h	
4	Maus	Aufschwemmung einer Öse Kaninchenmilzbrei aus Staphylokokken in 1 ccm physiol. Kochsalz- lösung intraperitoneal	26h	29h	Kontrolltier mit 1 Öse sterilen Kaninchen- milzbreies in 1 ccm phys. Kochsalzlösung bleibt am Leben

Aus den Ergebnissen dieser Versuche geht nun hervor, dass die Nährsubstrate in keiner Weise durch Röntgenstrahlen derart verändert werden, dass irgendwelche Differenzen in Morphologie und Biologie der Bakterien zum Ausdrucke kämen. Denn die Empfindlichkeit einiger gewählter Keimspezies, wie z. B. der Gonokokken, die selbst geringe Schwankungen in der Zusammensetzung ihrer Nährböden schlecht vertragen, hätte sich sicherlich in irgendeiner Weise geäusert.

Weiters sei auch bemerkt, das die Ergebnisse bei •fraktionierter« Bestrahlung sich vollkommen mit den eben angeführten deckten, wodurch eine genauere Detaillierung unnötig erscheint.

Nachdem nun festgestellt war, daß eine Wachstumsbemmung auf bestrahlten Nährböden nicht stattfindet, so gingen wir daran, die Resistenz der Bakterien selbst gegen Röntgenstrahlen zu prüfen. Da war es natürlich von Interesse, vorerst die Lebensäußerungen (Beweglichkeit, Teilung) während der Exposition zu studieren, da man aus diesen Beobachtungen einen Schluß für den Ausgang der späteren Versuche zu ziehen besser imstande war.

Schon vor einer Reihe von Jahren hatte Engelmann berichtet, daß es ihm gelungen sei, ein Bakterium zu züchten, das er wegen seiner photophilen Eigenschaften Bacterium photometricum nannte. Wenn er einen Teil einer Kultur dieses Mikroorganismus in einem flüssigen Medium mit inten sivem Lichte bestrahlte, so war zu konstatieren, daß alle Individuen zu diesem belichteten Punkte in großer Eile hinstrebten, während sie bei herrschender Dunkelheit in starrer Regungslosigkeit verharrten.

Sicherlich hat das Licht einen Einfluß auf die Beweglichkeit der Mikroorganismen.

In unserem Falle allerdings ist auch noch die Wirkung des elektrischen Stromes zu berücksichtigen, der aber gerade so wie die minimale Temperaturerhöhung durch Wärmestrahlung eine untergeordnete Rolle spielt.

Die Versuchsanordnung, die bei diesen Experimenten verwendet wurde, soll kurz an der Hand überstehender Abbildung erläutert werden: Von der Röhre a, die mit einem Gummischutz (nach Dr. Kaiser) bedeckt ist, gelangen durch dessen kreisrunden Ausschnitt die Strahlen in den Bleitrichter b, von 15 cm Länge und weiter auf den Objekttisch c des Beobachtungsmikroskopes, dessen Gesichtsfeld durch eine entfernt angebrachte elektrische Glühlampe beleuchtet wird.

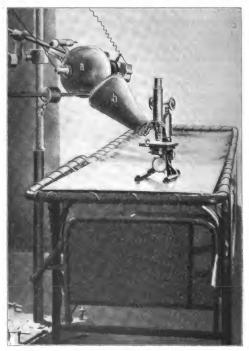
Ein von je einer zwölfstündigen Bouillonkultur verschiedener Bakterienarten hergestellter hängender Tropfen« war als Testobjekt gewählt, je ein gleicher außerhalb des Bereiches der Röntgenstrahlen und obendrein durch Blei geschützter diente als Kontrolle.

Beide Präparate blieben während der ganzen Dauer der Bestrahlung (2—2½ Stunden) im Mikroskope eingestellt und wurden konstant beobachtet.

#### 354 Einiges über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen.

Auch hier kamen verschiedene Härtegrade der Röhren in Verwendung.

Untersucht wurden: B. typhi, B. coli, V. cholerae, B. pyo-



cyaneus, B. proteus und Trypanosoma levisii im frisch entnommenen Blute einer infizierten Ratte.

B. proteus, V. cholerae und die Trypanosomen zeigten während der ganzen Dauer der Exposition dasselbe Bild wie die entsprechenden Kontrollpräparate. Anders lagen die Verhältnisse bei B. typhi, B. coli und B. pyocyanens. Sofort nach Einschalten des Koutaktes (Inbetriebsetzen der Röhre) ließen die Keime eine eklatant lebhaftere und unruhigere Bewegung erkennen. Die einzelnen Individuen schienen wirr im Gesichtsfelde herumzuschießen, eine gleichmäßige Lokomotion war nicht mehr wahrzunehmen.

In den entsprechenden Kontrollpräparaten war ein derartiger Erregungszustanda, auch wenn man denselben elektrischen Strom nur mit Ausschluss der Röntgenröhre in gleicher Entsernung vorbeistreichen ließ, nicht zu erkennen. Brachte man sie jedoch unter das der Strahlenwirkung ausgesetzte Mikroskop, so konnte man auch hier die gleiche Erscheinung konstatieren.

Sobald jedoch diese elektrische Leitung unterbrochen wurde und man dadurch die Röntgenröhre aufser Tätigkeit setzte, so kehrte die Beweglichkeit rasch zur Norm zurück.

Worauf dieses bei einzelnen Mikroorganismen auftretende Phänomen zurückzuführen ist, läßt sich schwer entscheiden.

Ein Einflus lediglich des vorbeifliefsenden elektrischen Stromes scheint durch den oben erwähnten Kontrollversuch ausgeschlossen, Wärmewirkung kommt wohl auch nicht in Betracht, da, wie schon erwähnt, die Röntgenröhre Wärmestrahlen von geringster Menge und Intensität entsendet, speziell zu Anfang vor dem Glühen der Antikatode.

Dann ist auch auffällig, daß gerade nur einzelne Mikroorganismen diese Erscheinung aufweisen.

Schandinn<sup>16</sup>) hatte eine Reihe von Protozoen einer Bestrahlung unterzogen und ebenfalls bei diesen sehr bedeutende Differenzen in der Reaktion konstatieren können. Eine Spezies (Amöba princeps Ehrenberg) zeigte anfangs eine Steigerung ihrer Bewegungen, um erst nach stundenlanger Bestrahlung in einen vollkommenen Ruhezustand überzugehen. Eine andere jedoch schien durch Bestrahlung gar nicht beeinflust zu werden.

Eine Reihe weiterer Versuche ist im Zuge um diese interessanten Erscheinungen genauer zu studieren.

Aus den vorliegenden Versuchen geht nun hervor, dafs man mit geringen Hoffnungen auf einen positiven Erfolg betreffs der keimtötenden Wirkung der Röntgenstrahlen an die weiteren Versuche gehen müsse.

Denn die Beweglichkeit ist ein so feiner Indikator für die Lebensenergie der Bakterien, daß man in einem Nichtverlust derselben, bei Einwirkung irgendeines Mittels wohl dessen geringe Wirksamkeit vermuten kann.

Wenn auch der Einwand erhoben werden könnte, das vielleicht erst durch lange dauernde Bestrahlung eine Schädigung
der Mikroorganismen in dem Abnehmen der Lokomotionsfähigkeit zum Ausdruck kommt, so mus darauf erwidert werden,
das das unwahrscheinlich ist. Wenn ein Agens, dem man bakterizides Vermögen zuschreibt, durch einen Zeitraum von 2 Stunden
auf Keime einwirken kann, ohne deren Schädigung hervorzurufen,
so gibt dies wohl der Behauptung einige Sicherheit, das diesem
Mittel kein wesentlicher hemmender oder gar vernichtender Einflus innewohne.

Immerhin mußte doch eine Reihe von Untersuchungen gemacht werden, um darüber sich ein Urteil bilden zu können.

Im großen und ganzen deckten sich die Anordnungen, was das Allgemeine betrifft, auch hier mit denen bei der Prüfung des Verhaltens der Nährböden gegen Röntgenstrahlen, natürlich mit dem Hauptunterschiede, daß die Medien kurz vor der Bestrahlung beimpft wurden. Daß dabei die verschiedensten Variationen zur Verwendung gelangten, ist selbstverständlich. Denn es ist natürlich nicht gleichgültig, ob die Keime an der Oberfläche der Platte oder diffus in derselben verteilt zu liegen kommen.

Im ersteren Falle werden sämtliche von derselben Strahlenintensität getroffen, während im letzteren die Strahlen erst ein Medium, wenn auch in dünner Schicht, zu durchdringen haben, dessen Absorptionsfähigkeit für sie nicht genau eruierbar ist. Allerdings kommt dieser Modus den natürlichen Verhältnissen, wo ja auch die Mikroorganismen innerhalb des Gewebes liegen und erst in zweiter Linie der Strahlenwirkung ausgesetzt sind, näher.

Die letztgenannte Modifikation konnte naturgemäß nur bei durchsichtigen Nährmedien in Anwendung gebracht werden, da eine Zählung innerhalb undurchsichtiger kaum möglich ist. Die Versuche wurden also in zweierlei Richtung durchgeführt:

- Die Oberflächenimpfung, quantitativ analog den beschriebenen Experimenten.
- Die diffuse Verteilung nach vorangehender Verflüssigung des N\u00e4hrbodens in gewohnter Weise und Beschickung mit genau gleichgrofsen Mengen, worauf die Platten gegossen wurden.

Die Behandlung der flüssigen Medien geschah in Übereinstimmung mit der bei den früheren Versuchen.

Was Expositionszeit, -Entfernung und Röhrenqualitäten anlangt, so entsprechen die folgenden Anordnungen ebenfalls den vorangehenden, desgleichen die Berücksichtigung der Beziehungen zwischen Mikroorganismen und Nährboden.

Auch hier geben die folgenden Tabellen genaue Aufschlüsse:

Tabelle IV.
Feste Nährböden. (Oberflächenimpfung.)

Nr.	Nährboden		Keimzahl nach 24 Stunden			
		Impfmaterial	be- strahlt. Teil	Kon- trolle	Anmerkung	
1	Gelatine	B. pyocyaneus	214	200	Farbstoffbildung und Ver- flüssigung gleichartig. (Keimzählung nach 48h)	
2	Agar	B. anthracis	172	189	Deutliche beginnende Sporenbildung	
3	Glyzerinagar	B. diphtheriae	319	302		
4	Traubenzucker- agar	B. tetani	133	129	Bei anaerober Kultur	
5	Drigalskiagar	B. typhi	297	303	Kolonien charakteristisch blau	
6	Drigalskiagar	B. coli com.	438	421	Kolonien deutlich rot	
7	Neutralrotagar	B. typhi	176	189	Keine Entfärbung	
8	Neutralrotagar	B. coli com.	279	254	Typische Entfärbung und Fluoreszenz	
9	Serumagar	Gonokokken	84	72		
10	Löfflers Serum	B. diphtheriae	214	193		
11	ErstarrtesKanin-	Staph.pyog.aur.	392	281	Deutlicher heller Hof um	
	chenblut			latten	jede Kolonie	
12	Kaninchen- milzbrei	Staph. pyog. aur.	513	539		

Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

Tabelle V. Feste Nährböden. (Diffuse Impfung.)

Nr.			Keimza 27 Sti	hl nach inden	
	Nährboden	Impfmaterial	be- strahlt. Teil	Kon- trolle	Anmerkung
1	Gelatine	B. pyocyaneus	329	334	(Keimzählung nach 48 h). Deutliche Verflüssigung und Farbstoffbildung
2	Agar	B. anthracis	248	232	
3	Glyzerinagar	B. diphtheriae	112	103	
4	Traubenzucker- agar	B. tetani	28	37	Bei anserober Kultur
5	Serumagar	Gonokokken	121	106	

Tabelle VI.
Flüssige Nährböden. (Zählplatten.)

Nr.	Nährboden	Impfmaterial	Keimzahl nach 24 Stunden		Keimzahl nach 96 Stunden		Anmerkung
		Namrooden Impiniaceria;		Kon- trolle	bestrahlt	Kontrolle	Admerating
1	Pepton wasser	V. cholerae	920	890	unzählige Keime		Deutliche Indolbildung
2	Bouillon	B. dysenteriae	4380	4420	unzählig	e Keime	
3	Milch	B. acidi lactici	3700	3500	unzählig	e Keime	Milch fest geronnen
4	Kaninchen- serum	B. anthracis	2100	2000	unzählig	e Keime	
5	Defibriniertes Kaninchen- blut	Staphyl. pyog. aur.	3250	3080	unzāhlig	e Keime	Starke Auf- lösung der roten Blut- körperchen

Zu den Tabellen sei bemerkt, daß die Keimzahlen innerhalb ganz geringer und normaler Schwankungen sich bewegten, daß fast ebenso oft auf den bestrahlten Nährmedien mehr Mikroorganismen angegangen waren als auf den Kontrollen, wie umgekehrt.

Auch hier konnten in der weiteren Beobachtung der Bakterien (Übertragung auf frische Medien, Farbstoffbildung etc.) gar keine Differenzen konstatiert werden.

Um den Verhältnissen in der Praxis bei Bestrahlung von Krankheitsherden parasitärer Natur möglichst nahe zu kommen, wurde die Bestrahlungsform auf die Experimente in vitro derart übertragen, dass teils diffus beimpste (transparente), teils oberslächlich beschickte (undurchsichtige) Nährböden »fraktioniert« durch 10 Tage je 3/4 Stunden exponiert, in der Zwischenzeit jedoch im Eisschrank gehalten wurden, um ein Auskeimen zu verhindern, wobei vorweggenommen sei, dass in den meisten Fällen keine Kolonienentwicklung am Ende der Bestrahlungsperiode beobachtet werden konnte.

Erst nach Beendigung der Exposition, die also insgesamt 71/2 Stunden währte, wurden die Platten in üblicher Weise weiter behandelt und kontrolliert.

Da die Resultate auch hier im Sinne einer bakteriziden Wirkung völlig negativ waren, so erübrigt eine genaue Besprechung.

Von Wichtigkeit schien es nun, vergleichende Versuche über die Virulenz der Kulturen, die sowohl von Kolonien der bestrahlten wie geschützten Proben stammten, anzustellen.

Von jedem mäusepathogenen Mikroorganismus wurde folgendermassen die Virulenzprüfung vorgenommen:

Je eine mikroskopisch annähernd gleichgroße Oberflächenkolonie (nach 24 Stunden), sowohl auf den Kontroll- wie Testplatten, wurde mit einem sterilen Messer aus dem Nährboden herausgeschnitten und in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung übertragen, sorgfältig abgespült und dann diese Aufschwemmung je einer Maus intraperitoneal injiziert; bei den Kulturen in flüssigen Nährsubstraten wurde die Impfung mit 1/2 ccm desselben vorgenommen.

Tabelle VII zeigt die genaueren Details:

	Tabelle	T A A .
Nr.	Impfmaterial	T
241.	Impiliateriai	Kontro
i		1

Nr.	Impfmaterial	Tod nach		
111.	пиринасены	Kontrolle	bestrahlt	
1*)	B. anthracis	14h	11h	
2	B. tetani	48h	51h	
3	B. typhi	26h	28h	
4*)	V. cholerae	32h	38h	

Taballa VII

24 .

<sup>\*)</sup> Kulturen in flüssigen Medien.

Sämtliche Impfversuche wurden mehrmals angestellt und ergaben stets sehr ähnliche Resultate.

Fassen wir nun die Ergebnisse aller Experimente zusammen, so finden wir, dass durch Bestrahlung auch bei Anwendung der verschiedensten Methoden, die Mikroorganismen keinerlei Schaden nehmen, der in Veränderungen ihrer Morphologie und Biologie zum Ausdrucke kommt. Selbst Keime von sehr geringer Resistenz gegen äußere Einflüsse ertragen anstandsloseine auch länger währende Exposition.

Gegen diese Tatsache nun stehen die unleugbaren Erfolge der Röntgentherapie in schwerem Widerspruch, und wir müssen uns auf Grund unserer Versuchsresultate der Meinung anschließen, daß die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen nur eine sekundäre sei, indem sich im lebenden Organismus Prozesse abwickeln, die eine Vermehrung und deletäre Wirkung der Bakterien hintanhalten.

# Literaturverzeichnis.

- 1. Berton, Semaine medic., 1896.
- 2. Mink, Münchner mediz. Wochenschr., 1896.
- 3. Mink, ibidem.
- 4. Beck und Schultz, Zeitschr. f. Hygiene, 1896, Bd. XXIII.
- 5. Wittlin, Zentralbl. f. Bakteriol., 1896, Bd. XXI.
- 6. Wade, Brit. medic. Journal, 1896.
- 7. Labrazès et Rivière, Compt. rend. de Ac. de Soc., 1897.
- 8. Blaisie und Sambuc, Ebendort.
- 9. Pott, Lancet, 1897.
- 10. Rieder, Münchner mediz. Wochenschr., 1899.
- 11. Wolfender und Forbes Rofs, Lancet, 1898.
- 12. Zeit, The Journ. of Amer. med. assos., 1901.
- 13. Scholtz, Archiv f. Dermat. u. Syphilis, Bd. 59, 1902.
- 14. Freund, Grundrifs d. gesamt. Radiotherapie, 1908.
- 15. Schaudinn, Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. 77.
- 16. Sormani, Giorn. dell. r. soc. it. d'ig., 1896.

# Die Abtötung von Bakterien in der Impflymphe mittels Chloroform.

#### Von

#### Dr. A. H. Nijland,

Direktor des .Institut Pasteur- und der Impfanstalt in Batavia.

Es hat sich bis jetzt überall gezeigt, daß die Vakzine, kurz nach ihrer Abnahme vom Kalbe, Bakterien enthält. Obwohl die meisten dieser Bakterien zu den nicht pathogenen gehören, kommen öfters Staphylokokken und Streptokokken in der frischen Vakzine vor, welche — die vielen Untersuchungen in dieser Richtung haben es ergeben — nicht zu den unschuldigen gerechnet werden dürfen. Verschiedene Forscher haben denn auch die Komplikationen, welche bisweilen nach der Vakzination entstehen, dem Bakteriengehalt, namentlich dem Staphylokokkenund Streptokokkengehalt des Impfstoffes zugeschrieben.

Besonders Landmann¹) hat die Aufmerksamkeit auf diesen Punkt gelenkt. Seine Behauptung, daſs >die entzündliche Reaktion um die Impfpusteln zum größten Teil hervorgerufen wird durch primäre Infektion, d. h. durch die in der Lymphe vorhandenen Staphylokokken und Streptokokken hat viele Untersuchungen veranlaſst, durch die bestätigt wurde, daſs in der Impflymphe Staphylokokken und Streptokokken, zumal erstere, vorkommen, welche für Tiere pathogen sein können, zugleich aber auch, daſs der Gebrauch einer Vakzine mit sehr hohem Bakteriengehalt bei Menschen keinen Anlaſs zu Komplikationen zu geben

<sup>1)</sup> Hyg. Rundschau, 1895, Nr. 21, S. 975-979.

braucht. Während Lymphe mit hohem Bakteriengehalt oft keine Randröte um die Impfpusteln verursacht, gibt eine solche mit geringem Bakteriengehalt manchmal Anlass zum Auftreten eines solchen entzündlichen Randes.

Für die Praxis würde es von allerhöchster Bedeutung sein, wenn eine Methode gefunden würde, mit der es gelänge, die Lymphe entweder vollkommen rein zu züchten oder den auf gewöhnliche Weise erhaltenen Impfstoff auf einfache Art und in kurzer Zeit von den darin vorkommenden Bakterien zu befreien.

Dr. Paul aus Wien hat versucht, durch das Anlegen von Verbänden bei den geimpften Kälbern, den Bakteriengehalt der Lymphe zu verringern. Es ist ihm denn auch wirklich gelungen. mit seinem Tegminverband einen bakterienarmen Impfstoff zu erlangen. 1) Seine Methode findet bis jetzt wenig Anwendung. weil die Verbände, wie er sie angibt, zu oft gewechselt werden müssen, und die viele Arbeit, welche damit mehr verrichtet werden muß, nicht gibt, was man eigentlich verlangt, nämlich einen wirklich sterilen Impfstoff. Die verschiedenen Bemühungen um die in kurzer Zeit zu bewirkende Befreiung der Vakzinelymphe von ihren Bakterien haben ebenso bis heute noch keine praktische Anwendung gefunden. Das Zentrifugieren der Lymphe, wodurch der Bakteriengehalt in kurzer Zeit stark verringert wird, hat keinen Eingang in die Praxis gefunden. Die Aufbewahrung von der mit Glyzerin vermischten Impflymphe bei hoher Temperatur (37° C) veranlafst wohl eine rasche Abnahme des Bakteriengehalts, aber in den meisten Fällen eine so schnelle Abnahme des Wirkungswertes, dass sie für die Praxis untauglich wird.

Bis jetzt wird denn auch nur die Aufbewahrung der Lymphe mit Glyzerin allein oder mit Wasser verdünnt zu Befreiung der Bakterien angewendet. Hierzu ist es aber notwendig, den Impfstoff wenigstens 3—4 Wochen bei niedriger Temperatur aufzubewahren, bevor er sich genügend gereinigt hat, um für die Impfungen gebraucht zu werden.

Über eine verläßeliche Methode zur Erzeugung einer von vornherein keimarmen animalen Vakzine. Das österreichische Sanitätswesen, 1898, Nr. 52.

Nun hat Green 1) eine Methode beschrieben, mittels deren es möglich würde, in sehr kurzer Zeit Impflymphe ohne Schaden für ihre Wirksamkeit bakterienfrei zu machen. Er verwendet hierzu das Chloroform. Seine Mitteilungen sind derart, dass sie den Eindruck geben, als ob das Chloroform, wenn es in der von ihm angegebenen Weise angewendet werde, für die Wirksamkeit des Impfstoffes vollkommen unschädlich sei, während es sehr stark auf die in der Lymphe enthaltenen Bakterien einwirken soll. Im Hinblick auf die große Bedeutung der Veröffentlichung Greens habe ich die von ihm beschriebenen Experimente wiederholt, um nachzuforschen, ob die Methode sich im praktischen Gebrauch bewähre. Stabsarzt Dr. C. W. Broers gab mir die Gelegenheit in dem Laboratorium des Militär-Spitals zu Utrecht, diese Untersuchungen zu machen; für seine Gefälligkeit, sowie für seine weitere freundliche Hilfe sage ich ihm hier aufs herzlichste Dank.

Während ich mit meinen Untersuchungen beschäftigt war, erschien im Zentralblatt für Bakteriologie Bd. XXXVI, Refer. 1905, Nr. 1—3, eine Mitteilung von Carini: »Über Methoden schneller Bakterienbefreiung der frisch abgenommenen Kuhpockenlymphe. Carini teilt mit, daß er die Methode von Green erprobt hat und sagt von ihr: »Wir haben dieses Verfahren bei einigen Lymphproben nachgeprüft und in der Tat gefunden, daß die Lymphe in einigen Stunden von nicht sporentragenden Bakterien durch sie befreit werden kann, während ihre Virulenz nur wenig beeinflußt wird. Erst später, bei längerer Aufbewahrung im Kühlraum, macht sich allerdings eine gegenüber der glyzerinierten (Kontroll-) Lymphe bemerkbare Abnahme der Aktivität geltend. «

Ganz gewonnen ist er aber für diese Methode nicht, er hat nämlich versucht, sie durch eine andere zu ersetzen, und zwar dadurch, daß er die Lymphe mit Toluol behandelte. Obwohl er gute Resultate erzielte, wagte er sie aber noch nicht für die Praxis zu empfehlen. Von dieser Behandlung sagt er: Obwohl

<sup>1)</sup> Medic. Offic. Rep. Loc. Govern. Board, 1902-1903, p. 659-666.

diese Versuche noch nicht geeignet sind, die Methode der Reinigung der Lymphe vermittelst Toluol ohne weiteres zur Anwendung anzuraten, so haben wir doch darin ein Verfahren kennen gelernt, welches uns ermöglicht, die Bakterien des Impfstoffes in kürzester Zeit zu vernichten, unter Beibehaltung der vollen Aktivität der Lymphe.

Meine Versuche wurden genau in der von Green beschriebenen Weise ausgeführt. Die Herren Direktoren der Impfstoff-Gewinnungs-Anstalten zu Rotterdam, Haag, Amsterdam, Haarlem, und Utrecht kamen mir in freundlichster Weise entgegen und unterstützten mich bei meinen Untersuchungen, indem sie mir die dazu nötige Lymphe zur Verfügung stellten und in ihren Anstalten den von mir behandelten Impfstoff durch Impfung auf Kinder und Kälber prüften. Ich kann denn auch nicht nachlassen, den verschiedenen Herren für ihre hochgeschätzte Mithilfe, die meine Untersuchung ermöglichte, zu danken.

Die Lymph-Pulpa wurde mir, unmittelbar nachdem sie vom Kalbe abgekratzt war, zugesandt; infolgedessen erhielt ich sie stets längstens 24 Stunden nach der Ernte. Zur gleichen Zeit wurden mir einige Röhrchen Glyzerin-Lymphe geschickt, die vom gleichen Kalbe stammte und auf die in den Anstalten gebräuchliche Weise zubereitet war. Dies machte es mir möglich, als Kontrolle für die Sterilisierversuche, den Bakteriengehalt der gewöhnlichen Lymphe zu bestimmen. Die erhaltene Pulpa wurde in einem sterilen Mörser feingerieben und mit sterilisiertem, destilliertem Wasser in einem Verhältnis von 1 Gewichtsteil zu 3 Teilen Wasser vermengt. Durch diese Emulsion wurde Chloroformdampf geführt. Zu diesem Zweck wurde ein Luftstrom, der zuerst durch ein mit Chlorkalk, dann durch ein mit Watte beschicktes Röhrchen geführt wurde, durch eine Gaswaschflasche, welche zum Teil mit Chloroform gefüllt war, und von hier aus durch die wässerige Lymphe-Emulsion geleitet. Zur Erlangung des benötigten Luftstromes benutzte ich anfangs eine Wasserstrahlpumpe. Da diese einen unregelmäßigen Druck gab, verzichtete ich darauf und wendete später zwei große Flaschen an, die 1/2 m übereinander gestellt wurden, und von denen die untere durch einen gut schließenden, doppelt durchbohrten Stopfen verschlossen war. Durch den Stopfen waren zwei Glasröhren geschoben, welche oben in der Flasche mündeten; die eine davon war mittels eines Gummischlauches mit einer Heberröhre aus der oberen Flasche, die andere mittels eines Gummischlauches mit dem mit Chlorkalk gefüllten Röhrchen, wodurch die Luft geführt werden sollte, verbunden.

Wenn die obere Flasche mit Wasser gefüllt und die Hebeeinrichtung in Wirkung gebracht wurde, flos das Wasser in die
untere Flasche, und wurde die Luft hieraus durch das andere
Glasrolır getrieben. Auf diese Weise erhielt ich einen sehr konstanten Luftstrom, der durch Klemmschrauben an den beiden
Gummischläuchen nach Belieben reguliert und mit Flaschen von
15 1 Inhalt gleichmäßig, etwa 5 Stunden lang, unterhalten werden
konnte. Das Rohr mit Chlorkalzium, wodurch der Luftstrom geleitet wurde, diente zum Trocknen der Luft, das Rohr mit Watte
zum Sterilisieren des Luftstromes.

Die wässerige Lymphe-Emulsion, welche von den Bakterien befreit werden muſste, wurde in eine kleine Gaswaschflasche getan, durch die der mit Chloroform gesättigte Luftstrom sodann geführt wurde. Sobald der Strom genügend lange durchgeleitet war, wurden die zu- und abführenden Röhren der Gaswaschflasche, worin sich die Emulsion befand, durch Klemmschrauben geschlossen. Das in Wasser aufgelöste Chloroform verdampfte auf diese Weise nicht, so dass man es nach Willkür länger oder kürzer einwirken lassen konnte. Bei verschiedenen Versuchen wurde noch, nachdem eine bestimmte Zeit lang Chloroform durch die Emulsion geleitet war, in die Öffnung der Gaswaschflasche, in der sich die Emulsion befand, ein mit einigen Tropfen Chloroform befeuchteter Wattepfropfen angebracht. Auf diese Weise wurde dauernd eine konzentrierte wässerige Chloroformlösung im geschlossenen Fläschchen erhalten, wodurch eine sichere Einwirkung auf die in der Emulsion anwesenden Bakterien hervorgerufen wurde. Dabei wurde besonders darauf geachtet, daß kein Chloroform von der Watte in die Emulsion abtropfen konnte; denn Green hatte gezeigt, dass Chloroform, das unmittelbar in die Emulsion gebracht wurde, eine baldige Virulenzabschwächung des Vakzinevirus zur Folge hatte.

Sobald erwartet werden konnte, daß die Bakterien in der Emulsion ganz oder annähernd vernichtet worden wären, wurde das im Wasser gelöste Chloroform aus der Emulsion vertrieben, indem eine Stunde lang ein Strom steriler Luft durch die Emulsion geleitet wurde. Nach meiner Erfahrung genügt ein Strom steriler Luft, um in einer Stunde aus der Flüssigkeit alles Chloroform auszutreiben.

Von Green wird mitgeteilt, daß es am besten ist, nach der Behandlung der Lymphe mit Chloroform nur einen Teil davon aus der Emulsion zu vertreiben und so viel in der Emulsion zurückzulassen, daß eine Entwicklung von Bakteriensporen, welche lebend geblieben sind, verhindert wird.

Weil es mir in den wenigen Experimenten, die ich in der angegebenen Weise genommen, vorgekommen ist, dass zu viel Chloroform aus der Emulsion vertrieben wurde, so daß in kurzer Zeit wieder eine starke Entwicklung von Bakterien in der Emulsion stattfand, und man beim Vertreiben des Chloroforms keinen Anhaltspunkt hat, wieviel Chloroform in einem gewissen Moment noch in der Emulsion anwesend ist, habe ich bei den weiteren Versuchen immer sofort alles Chloroform ausgetrieben, und zu der wässerigen Lymphe-Emulsion eine gleiche Menge Glyzerin beigefügt, wodurch einer Entwicklung der noch in der Emulsion anwesenden Bakterien zuvorgekommen wurde; die Lymphe konnte dann wie gewöhnliche glyzerinierte Lymphe aufbewahrt werden. Diese mit Chloroform behandelte Lymphe, von der ein Teil mit 6 Teilen Glyzerinwasser (50%) von mir gemengt wurde, habe ich nach längerer oder kürzerer Zeit durch Impfung auf Kinder oder Kälber in ihrer Wirksamkeit geprüft.

Zur Bestimmung des Bakteriengehaltes wurde mit Platinösen und Forsterschen Spiralen, deren Inhalt zuvor festgestellt war, Agar geimpft und diese zu Platten ausgegossen. Die Agarplatten wurden im Brutschrank bei 37°C gehalten, auf gewöhnliche Weise in ihrer Entwicklung nachgegangen, die Anzahl aufgekommener Kolonien bestimmt und auf die untersuchte Flüssigkeit berechnet.

#### Versuch I.

5 g Lymphpulpe, die vor 24 Stunden in Rotterdam geerntet war, wurden in einem sterilen Mörser feingerieben und mit 15 ccm sterilisiertem destilliertem Wasser vermischt.

Durch die wässerige Emulsion wurde 2 Stunden lang Chloroformdampf geführt und dann das Röhrchen geschlossen.

Nach  $4 \times 24$  Stunden wurde das Chloroform, indem ich während einer Stunde einen Luftstrom durch die Emulsion führte, ausgetrieben und zu 5 ccm der Emulsion 5 ccm Glyzerin zugefügt.

Der Bakteriengehalt der wässerigen Lymphe-Emulsion war:

Vor dem Durchleiten des Chloroforms eine unzählbare Menge,

Nach 2 Stunden , pro 1 ccm nicht zu bestimmen 1)

18 Geschlossensein des Röhrchens pro 1 ccm ca. 620

, 24 , , , , , 1 , , 180

724 7 7 7 7 100

Die Kolonien, welche sich auf den Platten bildeten, nachdem das Chloroform 42 Stunden eingewirkt hatte, bestanden alle aus sporentragenden Bazillen, der Subtilis- und Mesentericus-Gruppe angehörend.

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten, von dem gleichen Kalbe stammenden Glyzerinlymphe war:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	pro	1	cem	ca.	2000000
	Stunde		,		•		,	,	400 000
2	Wochen	,	,	,	,	1	,	,	81 000
-3	,	,	,	,	,	1	,	,	41 000
4	,	,	3	3	,	1	,	,	28 000
5	,	,	,	,	,	1	,	,	13 000
7						1			5,000

14 Tage nach der Chloroformdurchleitung wurden zu Rotterdam 10 Kinder mit der behandelten Lymphe geimpft, jedes mit 10 Stichen. Hiervon entwickelten sich bei 2 Kindern je 10 Impfpusteln, bei 1 Kinde 9, bei 1 Kinde 8, bei 3 Kindern je 6 und bei 3 Kindern je 5 Pusteln.

Von den 100 gemachten Stichen gelangen also 70 oder 70°/o.

#### Versuch II.

3,5 g Lymphpulpe, aus dem Haag, 24 Stunden alt, wurden in einem Mörser feingerieben und mit 10,5 ccm aq. dest. vermischt.

Durch diese wässerige Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, nach dieser Zeit das Röhrchen geschlossen. Nach 44 Stunden hatte sich gezeigt, daß der Bakteriengehalt noch ziemlich hoch war (620 pro 1 ccm). Es wurde daher wiederholt 1 Stunde lang Chloroform durchgeleitet und danach das Röhrchen wieder während 24 Stunden geschlossen gehalten.

4×24 Stunden nach dem Anfang der Chloroform-Einwirkung wurde 1 Stunde lang ein Strom steriler Luft durch die Emulsion geleitet; nachher

Die gemachten Platten waren ganz mit einer gelbgrünen Masse, bestehend aus sporentragenden Bazillen, bedeckt.

wurde zu 5 ccm Glyzerin der wässerigen Lymphe-Emulsion 5 ccm Glyzerin zugefügt. Der Bakteriengehalt der wässerigen Emulsion war pro 1 ccm:

Vor	der	n Durch	leiten	des	Chlore	forn	as .			590 000	Bakterien
Nac	h 2	Stunder	n ,	,	,					36 000	>
,	20	,	Gesc	hlose	ensein	des	Röhr	che	ens	27 000	>
	44	,		,	,	,		,		620	,

Nach nochmaligem Durchleiten des Chloroforms während 1 Stunde pro 1 ccm: 280 Bakterien.

Nach 24 Stunden geschlossen Sein des Röhrchens pro 1 ccm: 0. — Platten mit 50 mg der Lymphe-Emulsion blieben steril.

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerin-Lymphe vom gleichen Kalbe war pro 1 ccm:

24	Stunden	nach	der	Bereitung:	331 000
1	Woche	,	,	,	134000
2	Wochen	,	,	,	6800
3	,	,	,	3	5800
4	,	,	,	,	3800
5	,	,	,	,	1500
7					100

14 Tage, nachdem die Chloroform-Durchleitung begonnen war, wurden mit der Lymphe 9 Kinder zum erstenmal geimpft und 1 Kind revakziniert, jedes mit 10 Skarifikationen (von 2 à 3 mm Länge). Von diesen entwickelten sich bei 7 je 10 sehr schöne, gut entwickelte Pusteln, bei einem Kinde 8 und bei einem 7 Pusteln, das revakzinierte Kind reagierte nicht.

Weiter wurden 10 andere Kinder auf einem Arm mit behandelter Lymphe und auf dem anderen Arm mit gewöhnlicher Glyzerinlymphe vom gleichen Kalbe geimpft, auf jedem Arm 5 Skarifikationen. Hierbei war wieder eine Revakzination. Bei 8 Kindern kamen 10 Pusteln (auf jedem Arm 5), bei 1 Kinde 8 (auf jedem Arm 4) beim revakzinierten Kinde keine Pustel zur Entwicklung. Ein Kalb, das mit der behandelten Lymphe geimpft wurde, lieferte bei allen Stichen und Skarifikationen gute Vakzine-Posteln.

Eine Woche später (3 Wochen nach dem Anfang der Chloroformbehandlung) wurden 21 Kinder vakziniert, ein jedes mit 10 Skarifikationen. Von den 210 Skarifikationen lieferten 191 oder 90,9%, gute Pusteln. Bei einem Kinde, das mit 10 Skarifikationen revakziniert wurde, kamen drei Vakzine-Pusteln auf.

#### Versuch III.

3 g Lymphe aus Haarlem wurden feingerieben und mit 9 ccm aq. dest. vermischt.

Durch diese wässerige Emulsion wurde 2 Stunden lang Chloroform geleitet und nachher das Röhrchen geschlossen. Als sich ergab. daß der Bakteriengehalt noch zu hoch war, wurde nach 44 Stunden wieder 1 Stunde lang Chloroform durchgeleitet und das Röhrchen noch 24 Stunden geschlossen gehalten. Nach  $4 \times 24$  Stunden wurde alles Chloroform durch den sterilen Luftstrom ausgetrieben. Zu der wässerigen Emulsion wurde dann eine gleiche Quantität Glyzerin gefügt.

Der Bakteriengehalt der Emulsion war in 1 ccm:

Vor dem Dure	chleiten des	Chloroforn			812 000
Nach 2 Stunde	n , ,	,			250 000
· 17 ·	Geschlosse	ensein des	Röhrcher	18 .	37 000
· 44 ·	•	,	,		620.
Nach wiederh	oltem Chlorof	formdurch!	eiten, 1 S	tunde	
lang .					280
weiterer	24 Stunde	en Gesch	lossensein	des	
Röhrche	ns				80.

Der Bakteriengehalt der nicht mit Chloroform behandelten, auf gewöhnliche Weise zubereiteten Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war im Kubikzentimeter:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	3 000 000
1	Woche	,	,	,	291 000
2	Wochen	,	,	,	156 000
3	,	,	,		144 000
4	,	,	,	,	56,000.

8 Tage nach dem Anfange der Chloroformdurchleitung wurden 6 Kinder mit der Lymphe vakziniert; bei jedem wurden 10 Stiche gemacht. Hiervon gelangten bei 3 Kindern je 10 Pusteln, bei 1 Kinde 9 und bei 2 Kindern je 8 Pusteln zur Entwicklung. Von den 60 Stichen bildeten sich also 55 Impfpusteln = 91,6%.

Die Vakzinepusteln waren schön entwickelt und zeigten am 8. Tage keine Entzündungsprozesse.

1 Kind, das mit der Glyzerinlymphe vom selben Kalbe vakziniert worden war, bekam 10 Pusteln mit einem starken Infiltrat und großsem hyperimischen Rand um die Pusteln.

1 Kalb, am gleichen Tag mit der behandelten Lymphe geimpft, lieferte bei allen Stichen und Schnitten sehr gute Pusteln.

Einen Monat nach der Chloroformbehandlung wurden 9 Kinder vakziniert, jedes mit 10 Stichen. Von diesen entwickelten sich bei 5 Kindern je 10 Pusteln, bei 1 Kinde 9, bei 1 Kinde 7, bei 1 Kinde 8 und bei 1 Kinde 2 Pusteln; also bildeten sich von 90 Stichen 76 Pusteln oder 84,4%.

6 Wochen nach der Chloroformbehandlung wurde 1 Kalb mit der Lymphe geimpft, wobei ausgezeichnete Resultate erfolgten.

7 Wochen nach der Chloroformbehandlung entwickelten sich bei 21 Kindern von den gemachten 210 Stichen 148 Vakzinepusteln oder 70,4%.

# Versuch IV.

4 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden in einem Mörser feingerieben und mit 12 ccm aq. dest. vermischt. Durch die wässerige Emulsion während 2 Stunden Chloroform geleitet, dann das Röhrchen geschlossen.

Nach 5 × 24 Stunden wurde das Chloroform vertrieben und zu einem Teil der wässerigen Emulsion eine gleiche Quantität Glyzerin gefügt. Der Bakteriengehalt war im Kubikzentimeter:

		er Chloroforn	ndurchleitung		2 500 000
Nach 2	Stunden	•	,		625 000
· 17	> Gee	chlossensein	des Röhrche	ns	1 250
4.4					40

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerinvakzine vom selben Kalbe war pro Kubikzentimeter:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	500 000
1	Woche	,	,	,	66 000
2	Wochen	,	,	,	13 125
4	,	,	,	,	5 230
6					538

Ungefähr 1 Monat nach dem Anfange der Chloroformbehandlung wurden einige Kinder vakziniert, wobei 75%, der gemachten Stiche sich zu Impfpusteln entwickelten.

# Versuch V.

1½ g Lymphpulpe aus dem Haag wurden feingerieben und mit 4,5 ccm aq. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, nachher das Röhrchen während 24 Stunden geschlossen gehalten und endlich der größte Teil des Chloroforms durch einen sterilen Luftstrom vertrieben. Nach 6 Tage langer Aufbewahrung zeigte sich, dafs in der wässerigen Emulsion wieder Bakterienentwickelung stattgefunden hatte; deshalb wurde nochmals 1 Stunde lang Chloroform durchgeleitet und während 24 Stunden das Röhrchen geschlossen gehalten. Alsdann wurde das Chloroform vertrieben und die wässerige Emulsion mit der gleichen Quantität Glyzerin vermischt.

Der Bakteriengehalt war pro Kubikzentimeter: Vor dem Durchleiten des Chloroforms

Nach 2 St	unden	Geschlossensein	des R	öhrchens	36 000 6 250
> 24	,	•	,	,	1000
Tag nac	h der	Chloroformaustre	ibung		100
Tage >	,	,			8 000

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war pro Kubikzentimeter:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	1380
1	Woche	,	,	,	460
2	Wochen	,		,	230
8	,	,	,	,	50

Ungefähr 3 Wochen nach dem Beginne der Chloroformbehandlung wurden einige Kinder geimpft, jedoch ohne Erfolg.

Gewöhnliche Lymphe vom selben Kalbe lieferte sehr gute Resultate. Die Lymphe war also in diesem Versuch vollkommen unwirksam geworden.

126 000

#### Versuch VI.

3,3 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden in einem Mörser feingerieben und mit 10 ccm aq. dest. vermischt. Durch die wässerige Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, das Röhrchen während 24 Stunden geschlossen gehalten, und das Chloroform teilweise vertrieben, indem während 1/2 Stunde ein Luftstrom durch die Emulsion geführt wurde. Nach 6 Tagen wurde alles Chloroform ausgetrieben und Glyzerin zugefügt.

Der Bakteriengehalt war im Kubikzentimeter:

Vor den	n Durchle	eiten des	Chlorof	orms				unzählbare Menge
Nach 2	Stunden	, ,	,					2 500 000
• 20	-	Geschlo	esensein	des	Röhi	rche	ns	28 000
· 44	>		•	>		,		140
6 Tage 1	ach der t	eilweisen	Austreib	ung	des C	hlo	ro-	
form	8							0

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war pro Kubikzentimeter:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	2500000
1	Woche	•	,	,	187 000
2	Wochen		,	,	141 000
- 4					49,000

Ungefähr 4 Wochen nach dem Anfange der Chloroformbehandlung wurden einige Kinder mit der Lymphe geimpft, wobei sich 87°/, der angebrachten Stiche zu Vakzinepusteln ausbildeten.

# Versuch VII.

2 g Lymphpulpe, vor 2 Stunden in Utrecht von einem Kalbe entnommen, wurden fein zerrieben und mit 12 ccm sterilisiertem destilliertem Wasser vermischt. Durch diese Emulsion wurde 1 Stunde lang Chloroform geleitet und nachher das Röhrchen geschlossen.

Als sich zeigte, daß der Bakteriengehalt in der Emulsion noch hoch war, wurde, nachdem das Rohrchen 65 Stunden geschlossen geblieben war, im oberen Teil des Röhrchens ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen angebracht und nachher wieder geschlossen.

Durch das Verdunsten des Chloroforms und das Auflösen des Chloroformdampfes in der wässerigen Emulsion wurde eine starke Wirkung des Chloroforms erhalten. Nach  $2\times 24$  Stunden wurde der Wattepfropfen entfernt und ein Teil des Chloroforms durch einen Luftstrom während 1/4 Stunde vertrieben.

Die wässerige Emulsion wurde ohne Zufügung von Glyzerin aufbewahrt und an Kälbern geprüft.

Der Bakteriengehalt war im Kubikzentimeter:

Vor	de	n Durchl	eiten des	Chlorof	orms		1 100 000
Nac	h 1	Stunde	, ,	-			144 000
,	42	Stunden	Geschlo	ssensein	des	Röhrchens	25 000
>	65	,		>	>	,	19 000
,	24	Stunden	, nachder	n ein mi	it Chl	oroform be-	
		feuchtete	r Wattpf	ropfen a	ngebi	racht war .	0

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war pro Kubikzentimeter:

$\times 24$	S	tunden 1	aach	der	Bereitung	3 000 000
	1	Woche	,	,	,	657 000
	2	Wochen		,	•	6 250
	3	•	,	•	,	2500
	5	,	,		•	1 250
	7	,	,	,	,	153

Ungefähr 2 Wochen nach dem Beginne der Chloroformbehandlung wurde ein Kalb mit 60 Stichen geimpft. Hiervon entwickelten sich 12 kleine Pusteln. Die mit der gewöhnlichen Glyzerinlymphe erhaltenen Pusteln waren aber am geimpften Kalbe durchaus nicht besser als die, die mit der behandelten Lymphe erzeugt wurden. 3 Wochen nach der Chloroformbehandlung wurde mit dem Impfstoff nochmals ein Kalb geimpft, wobei sich diesmal von den 60 Stichen 53 kleine Pusteln entwickelten. Versuchsimpfungen auf Kinder wurden mit dieser Lymphe nicht ausgeführt.

#### Versneh VIII.

3.8 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden mit 11 ccm aq. dest. feingerieben und vermischt. Durch die Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroformdampf geleitet, nachher das Röhrchen geschlossen. Da sich der Bakteriengehalt noch hoch erwies, nachdem das Röhrchen 40 Stunden geschlossen geblieben war, wurde wie früher, im oberen Teil des Röhrchens ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen augebracht und das Röhrchen wieder zeschlossen.

Nach  $3 \times 24$  Stunden wurde ein Teil des Chloroforms und nach 6 Tagen alles Chloroform ausgetrieben, und die wässerige Emulsion mit der gleichen Quantität Glyzerin vermischt.

Der Bakteriengehalt im Kubikgentimeter war:

Vor dem I	Ourchleiten	des Chlor	oforms		unzählbare Menge
Nach 2 St	inden >	, ,			2500000
<ul> <li>18</li> </ul>	· Ges	hlossense	in des R	öhrchens	1 750 000
• 42	,	,	,	,	36 000
24 Stunden	nach dem	Anbringer	eines m	it Chloro	
form be	feuchteten	Wattepfro	pfens .		240
24 Stunder	nach der	teilweiser	Vertrei	bung des	
Chlorof	orma				0

Der Bakteriengehalt der gleichen, nicht mit Chloroform behandelten Glyzerinlymphe war pro Kubikzentimeter:

24	Stunden	nach	der	Bereitung	1 600 000
1	Woche	,	,	,	550 000
2	Wochen	,	•	•	97 000
3	,	,	,	,	90 000

Ungefähr 3 Wochen nach der Chloroformbehandlung wurden einige Kinder mit der Lymphe geimpft, wobei 76,2% der Impfstiche zu Pusteln aufkamen.

# Versuch IX.

3,5 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden fein zerrieben und mit 10,5 cm aq. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde 2 Stunden lang Chloroform geleitet, dann oben im Rohrchen ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen angebracht und das Röhrchen geschlossen. Nachdem es so 24 Stunden geblieben war, wurde ein Teil des Chloroforms ( $l_1$  Stunde Luftstrom durchgführt) und nach  $2 \times 24$  Stunden alles Chloroform vertrieben, und die wässerige Vaksineemulsion mit der gleichen Quantität Glyzerin vermischt.

Der Bakteriens	gehalt war ir	n Kubika	entimete	er:		
Vor dem Ar	fang des Ch	loroform	durchleit	ens		nnzählbar
Nach 2 Stu	inden Durch	aleiten 1	and 44	Stunden	Ge-	
schlossens	ein des Röh	rchens .				1000
$2 \times 24$ Stun	den nach d	er teilwe	isen Ver	treibung	des	
Chloroforn	ns					50.
Der Bakterieng	ehalt der Gl	yzerinlyn	phe von	selben I	Kalbe i	n 1 ccm war:
24	Stunden na	ch der B	ereitung	25000	00	
1	Woche	,	,	250 0	00	
9	Wochen			1980	00	

Eine Versuchsimpfung bei Kindern mit der behandelten Lymphe gab 91  $q_{\rm e}$  getungene Stiche.

# Versuch X.

2,5 g Lymphpulpe aus dem Haag wurden fein zerrieben und mit 7,5 ccm aq. dest. vermischt. Durch die wässerige Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, im Röhrchen ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen angebracht und das Röhrchen geschlossen. Nachdem es während 43 Stunden geschlossen geblieben war, wurde ein Teil des Chloroforms vertrieben (indem während ½ Stunde ein Luftstrom durchgeleitet wurde) und nach weiteren 24 Stunden alles Chloroform entfernt. Zu einem Teil der wässerigen Emulsion wurde alsdann eine gleiche Quantität Glyzerin gefügt und diese Glyzerinlymphe auf ihre Wirksamkeit geprüft.

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen Glyzerinlymphe vom gleichen Kalbe im Kubikzentimeter war:

6 Tage nach Beginn der Chloroformbehandlung wurden 5 Kinder geimpft, jedes mit 10 Skarifikationen. Bei allen Kindern kamen 10 schöne, gut entwickelte Pusteln auf.

25

- 3 Wochen nach der Behandlung mit Chloroform wurden 5 Kinder vakziniert, bei denen  $50\,^{\circ}/_{\circ}$  der gemachten Stiche reußierten.
- 6 Wochen nach der Chloroformbehandlung wurden 5 Kinder geimpft, wobei von den 50 Stichen jetzt 38 oder 76% gute Impfpusteln lieferten.

# Versuch XI.

- 3,5 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden feingerieben, mit 10,5 ccm aq. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde 2 Stunden Chloroform geleitet, nachher ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen ins Röhrchen gebracht und dieses 42 Stunden geschlossen gehalten.
- Alsdann wurde der Wattepfropfen entfernt nnd ein Teil des Chloroforms vertrieben (<sup>1</sup>/<sub>4</sub> Stunde Luft durchgeführt), dann noch 24 Stunden geschlossen gehalten und weiter alles Chloroform ausgetrieben. Ein Teil der wässerigen Emulsion wurde mit einer gleichen Quantität Glyzerin vermischt.

Der Bakteriengehalt war pro Kubikzentimete	r:					
Vor dem Anfang des Chloroformdurchleitens						unzählbar
Nach 2 Stunden .						130 000
42 - Geschlossensein des Röhrchens						20
24 Stunden nach der teilweisen Vertreibung des	Cl	hlo	rof	orr	ns	20.

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war im Kubikzentimeter:

Eine Probeimpfung mit der behandelten Lymphe bei Kindern lieferte bei  $16,6^{\circ}/_{\circ}$  der gemachten Stiche ein günstiges Resultat.

#### Versuch XII.

3,4 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurden feingerieben, mit 10,5 ccm aq. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, dann im Röhrchen ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen angebracht und das Röhrchen geschlossen. Nachdem es 46 Stunden so gehalten war, wurde der Wattepfropfen entfernt und alles Chloroform vertrieben. Zu einem Teil der wässerigen Emulsion wurde eine gleiche Quantität Glyzerin gefügt. Der Bakteriengehalt war pro Kubikzentimeter-

Vor dem Durchl	eiten des Cl	loro	forms			, .				unzählbar
Nach 2 Stunden	Durchleiten	und	22 St	unden	Ges	chlos	set	ise	in	60
. 9 .			AC							GO

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war im Kubikzentimeter:

> 24 Stunden nach der Bereitung 1 125 000 1 Woche > > 169 000.

Die Probeimpfung auf Kinder gab bei 3,3%, der gemachten Impfpusteln Stiche, die gewöhnliche Glyzerinlymphe vom selben Kalbe 70%.

# Versuch XIII.

1,5 g Lymphpulpe aus Amsterdam wurde feingerieben und mit 6 ccm aq. dest. vermischt. Durch das Gemische wurde während 2 Stunden Chloroform geleitet, dann der mit Chloroform befeuchtete Wattepfropfen im Röhrchen angebracht und dieses geschlossen. Nach 46 Stunden wurde alles Chloroform ausgetrieben und zu der Einulsion 4 ccm Glyzerin gefügt. In dieser Probe war also die Zusammenstellung der Glyzerinlymphe einigermaßen anders, nämlich 1,5 g Vakzine auf 6 Teile Wasser und 4 Teile Glyzerin.

Der Bakteriengehalt war pro Kubikzentimeter:

Vor e	ler	n Durchl	eiten des Cl	nloro	forn	ns		2800000
Nach	2	Stunden	Durchleiten	und	22	Stunden	Geschlossensein	0
,	2	•	•	>	46	•	,	0.

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen Glyzerinlymphe vom selben Kalbe war:

10 Tage nach der Bereitung pro 1 ccm . . . 27500.

Bei einer Probeimpfung mit der behandelten Lymphe auf Kinder, 6 Tage nach Anfang der Chloroformbehandlung, gelang von den gemachten Skarifikationen nichts, während die gewöhnliche Glyzerinlymphe vom selben Kalbe sehr gute Resultate lieferte.

#### Versuch XIV.

3,5 g Lymphpulpe aus Amsterdam wurde feingerieben und mit 10,5 ccm ag. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde 2 Stunden lang Chloroform geleitet, dann ins Röhrchen der mit Chloroform befeuchtete Wattepfropfen gebracht und das Röhrchen geschlossen. Nach 20 Stunden wurde alles Chloroform ausgetrieben und zu einem Teil der wässerigen Emulsion die gleiche Quantität Glyzerin gefügt. Der Bakteriengehalt war pro Kubikzentimeter:

Vor dem Durchle	eiten	des	Chloroforms					625000
Nach 2 Stunden	,	,	>					8 000
20	Gen	chlo	sensein des	Rö	hre	he	ns	240.

Ungefähr 1 Woche nach der Chloroformbehandlung hatte eine Probeimpfung an einem Kalbe mit der behandelten Lymphe, sowie die Vakzination an einigen Kindern sehr gute Resultate.

#### Versuch XV.

3,3 g Lymphpulpe aus Rotterdam wurde fein zerrieben und mit 10 ccm aq. dest. vermischt. Durch die Emulsion wurde 2 Stunden lang Chloroform geleitet, dann der mit Chloroform befeuchtete Wattepfropfen ins Röhrchen gebracht und dieses während 18 Stunden geschlossen gehalten. Dann wurde alles Chloroform ausgetrieben. Zu einem Teil der wässerigen Emulsion wurde dann die gleiche Menge Glyzerin gefügt. Der Bakteriengehalt war pro Kubikkentimeter:

Vor	der	n Durchl	eiten	des	Chlorofor	rm	8 .				2 500 000
Nach	2	Stunden	,	,	,						4 000
,	18		Gesc	hlos	sensein de	88	Rol	hre	he	ns	100.
											Of 8

Der Bakteriengehalt der gewöhnlichen Glyzerinvakzine war: 24 Stunden nach der Bereitung pro 1 ccm 1500000.

Eine Probeimpfung bei Kindern lieferte bei 20% der gemachten Stiche die gewöhnliche, nicht mit Chloroform behandelte Glyzerinlymphe vom selben Kalbe 99% Impfpusteln.

Bei allen Versuchen waren die, nach der Chloroformbehandlung noch in der Lymphe-Emulsion anwesenden Bakterien sporentragende Bazillen, die der Subtilis- und Mesentericusgruppe angehörten. Es ist damit dargetan, daß es möglich ist, mit Chloroform in kurzer Zeit die vegetativen Formen der in der Lymphe vorkommenden Bakterien zu töten. Nach 24—48 stündiger Einwirkung sind alle Bakterien, mit Ausnahme der Sporen, vernichtet.

Die Wirksamkeit der Lymphe dagegen hat unter der Chloroformbehandlung gelitten, in einzelnen Fällen wenig, in anderen aber viel. In Versuch I gelangen 14 Tage nach dem Anfang der Behandlung 70% der gemachten Stiche, in Versuch II 14 Tage nach der Behandlung 94% und 3 Wochen nach ihr 90,9%; in Versuch III nach 8 Tagen 91,6%, nach einem Monat 84,4%, nach 7 Wochen 70,4%. In Probe IV nach 1 Monat 75%, in Probe V nach 3 Wochen 0%, in Probe VI nach 4 Wochen 87%, in Probe VII nach 3 Wochen 88%, in Probe VIII 76,2%, in Probe IX 91%, in Probe X nach 6 Tagen 100%, nach 6 Wochen 76%, in Probe XI 16,6%, in Probe XII 3,3%, in Probe XIII nach 6 Tagen 0%, in Probe XIV wurden nach 1 Woche sehr gute Resultate erhalten und in Probe XV 20%.

Das Mifslingen der Proben V und XIII ist wahrscheinlich eine Folge der geringen Quantitäten, die in diesen Versuchen angewendet werden mußten. Beim Durchleiten von Chloroform, klebt beim Aufsprudeln der Flüssigkeit ein Teil an die Wand des Röhrchens an und trocknet dort; auf diese Weise fand ein Substanzverlust statt, der bei großen Quantitäten ohne Bedeutung ist, bei kleinen aber den Lymphgehalt der zurückbleibenden Emulsion stark herabsetzt.

Augenscheinlich beschleunigt auch das Anbringen eines mit Chloroform befeuchteten Wattepfropfens in das Röhrchen wohl die Vernichtung der in der Emulsion anwesenden Bakterien, aber schädigt die wirksame Substanz der Lymphe.

Im allgemeinen wurden in den letzten Versuchen weniger gute Resultate mit dem behandelten Impfstoff erzielt, als in den ersten. In Probe III z. B. waren die günstigen Resultate der Impfung von 91,6% nach 8 Tagen auf 70,4% nach 7 Wochen, und in Probe X von 100% nach 6 Tagen auf 76% nach 6 Wochen vermindert. Das spricht offenbar dafür, daß die mit Chloroform behandelte Lymphe beim Außbewahren schneller abgeschwächt wird als die gewöhnliche Glyzerinlymphe.

Wie sich in Versuch V und X zeigte, enthält die Glyzerinlymphe, die als Kontrolle diente, 24 Stunden nach der Bereitung sehr wenig Bakterien und zwar die eine ca. 1380, die andere ca. 25000 pro 1 ccm.

Diese geringe Zahl, die sehr auffallend ist, wenn man sie mit den Zahlen der übrigen Versuche vergleicht, darf wohl der Weise, wie man im Haag die Lymphe gewinnt, zugeschrieben werden. Dort werden die Kälber unmittelbar nach der Vakzination mit einem Schutzverband bedacht, während in den anderen Anstalten, von denen ich Lymphpulpe erhielt, dieser Verband nicht gebraucht wurde.

Daß jedoch ein Tegminverband nicht immer eine bakterienarme Lymphe gibt, beweist Versuch II, bei dem für die 24 Stunden alte Glyzerinlymphe aus dem Haag ein Bakteriengehalt von etwa 590000 pro 1 ccm gefunden wurde.

Um die Einwirkung der Chloroformbehandlung auf die Bakterien näher kennen zu lernen, auf die es in der Praxis hauptsächlich ankommt, d. h. auf die pyogenen Staphylokokken und Streptokokken, auf Tuberkel- und Tetanusbazillen, wurden noch die folgenden Versuche ausgeführt.

Zu 10 ccm wässeriger Lymphe-Emulsion, in der Bakterien durch Chloroform vernichtet worden waren, und aus der das Chloroform vollkommen ausgetrieben war, wurden 10 Tropfen einer in 2 ccm Wasser verteilten, 24 Stunden alten Agarkultur von Staphylococcus pyogenes albus gebracht, der aus einem Abszess gezüchtet war. Durch 5 ccm dieser Emulsion wurde

2 Stunden hindurch Chloroform geleitet, dann in das Röhrchen ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen gebracht und das Röhrchen geschlossen. Die übrigen 5 ccm der Emulsion dienten zur Kontrolle.

Vor dem Durchleiten enthielt die Emulsion massenhaft Bakterien. Nach 2 Stunden Durchleiten und 20 Stunden Geschlossensein blieb eine Platte, die mit 50 mg angelegt wurde, steril, während das Kontrollröhrehen eine unzählbare Zahl Kolonien auf einer Platte, die mit 1 Öse angefertigt worden war, lieferte. Ein gleicher Versuch mit Staphylococcus pyogenes aureus und mit — aus einem Abszefs gezüchteten — Streptokokken lieferte vollkommen dieselben Resultate. Virulente Staphylokokken und Streptokokken, die in eine Lymphe-Emulsion gebracht sind, werden also durch Chloroform innerhalb 24 Stunden vernichtet.

In 5 ccm steriler wässeriger Lymphe wurde 1 ccm aqu. dest. gebracht, worin 3 große Ösen einer Reinkultur von Tuberkelbazillen verteilt worden waren.

Von dieser Bakterien-Emulsion wurde ½ ccm intraperitoneal einem Meerschweinchen injiziert. Dann wurde 2 Stunden lang Chloroform durch die Emulsion geleitet, ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen in das Röhrchen gebracht und dieses geschlossen. Nach 46 und nach 70 Stunden wurde von der Emulsion jedesmal ½ ccm intraperitoneal einem Meerschweinchen injiziert. Das Meerschweinchen, das mit der Lymphe-Emulsion vor dem Durchleiten von Chloroform behandelt worden war, wurde 25 Tage nach der Injektion getötet.

Bei der Sektion wurde eine weit ausgebreitete Tuberkulose des Peritoneums, der Leber, Milz und Lymphdrüse gefunden. Die beiden anderen Versuchstiere wurden 2 Monate nach der Injektion getötet; bei beiden wurden keinerlei tuberkulöse Abweichungen gefunden. Die Chloroformbehandlung hatte also die in die Lymphe-Emulsion gebrachten Tuberkelbazillen innerhalb 48 Stunden zum Absterben gebracht.

In 5 ccm sterile wässerige Lymphe-Emulsion wurde 0,1 ccm einer 2 Tage alten Bouillonkultur von Tetanusbazillen gebracht, dann während 2 Stunden Chloroform durchgeführt und nachher ein mit Chloroform befeuchteter Wattepfropfen in das Röhrchen gebracht und dieses geschlossen. Vor dem Chloroformdurchleiten, dann nachdem das Röhrchen 2×24 Stunden und nachdem es 5×24 Stunden geschlossen gewesen war, wurden von der mit den Tetanusbazillen beschickten Lymphe anaerobe Bouillonkulturen angelegt. Diese waren, nachdem sie während 2×24 Stunden bei 37° im Brutschrank gehalten worden waren, deutlich trübe und enthielten gemäß der mikroskopischen Untersuchung Tetanusbazillen.

Die Einwirkung von Chloroform während 5×24 Stunden hat also, wie man bei dieser sporenbildenden Bakterienart erwarten konnte, die Tetanus-Bazillen nicht zu töten vermocht.

Überblickt man die Ergebnisse meiner Versuche, so erkennt man, dass die Behandlung der Lymphe mit Chloroform in sehr kurzer Zeit die in der Lymphe vorhandenen Vegetationsformen der Bakterien vernichtet, allerdings Bakteriensporen kaum schädigt. Von letzteren kommen nur Tetanussporen in Betracht, die aber erfahrungsgemäß fast nie zur Geltung kommen. Tetanussporen enthaltende Lymphe, die zu Tausenden von Impfungen diente, hat in keinem Falle 1) Tetanus verursacht. Die Chloroformbehandlung hat also durchaus keine untergeordnete Bedeutung. Während aber die Wirksamkeit der Lymphe dabei anfänglich unverändert zu sein scheint, vermindert sie sich ziemlich bald und bleibt dann hinter der der üblichen Glyzerinlymphe nicht unbeträchtlich zurück. Chloroformbehandlung dürfte sonach bei einer Lymphe, die bald verbraucht wird, ohne Zweifel Vorteile bieten. Allein eine allgemeine Behandlung der Lymphe, auch solcher, die längere Zeit bewahrt werden soll, dürfte bis auf weiteres nicht zu empfehlen oder der Glyzerinbehandlung vorzuziehen sein.

1) Vgl. Carini, Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 37, S. 50.

Batavia, Oktober 1905.

# Über die sogenannte Bräune des Rotweins.

Von

Dr. A. Hamm,

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Strafsburg i./Els.)

Anfang Januar 1905 wurden Herrn Prof. Dr. Forster von dem Vorstand des chemischen Laboratoriums der Polizeidirektion zu Strassburg, Prof. Dr. Amthor, einige Proben eines Rotweins übersandt, der durch eine hiesige Weingroßhandlung aus südfranzösischen Trauben bereitet worden war und jetzt eine Krankheit zeigte, die hier recht selten zur Beobachtung kommt. Nähere Nachforschungen ergaben, dass die betreffenden Trauben im Jahre 1901 im Departement du Gar gewachsen waren. hatte sie dort, um sie möglichst eintrocknen zu lassen und dadurch zum Transport geeigneter zu machen, bis zur Überreife hängen lassen: trotzdem sollen sie hier zum Teil in leicht verschimmeltem Zustande angekommen sein. Als der Wein sechs Monate nach dem Keltern abgezogen wurde, bemerkte man, daß er sich noch nicht ordentlich geklärt hatte; der Geschmack ließ hingegen nichts Abnormes erkennen, und so glaubte man, die Trübung sei auf eine zu langsam abgelaufene Gärung zurückzuführen. Nach Ablauf eines Jahres wurde der Wein wieder abgezogen, jedoch die erhoffte Klärung war noch keineswegs eingetreten. Es wurde deshalb zu den üblichen »Schönungsmitteln« gegriffen, die zwar die recht wenig gewünschte Folge hatten, daß

nach dem Filtrieren die Farbenuance des Weins eine hellere war als zuvor, aber die Trübung war damit nicht verschwunden. Nun wurde versucht, durch Verschneiden mit gleichen Mengen gesunden älteren Rotweins eine Klärung zu erzielen. Dadurch bekam der Wein wenigstens seine dunkelrote Farbe wieder und konnte in verschlossenen Flaschen sogar gesund erscheinen; von einer Heilung war indessen, wie gleich gezeigt werden soll, durchaus noch nicht die Rede.

Von den drei uns zugeschickten Proben bestand die eine aus dem Bodensatz des ursprünglichen Weins; die zweite enthielt diesen, so wie er sich nach dem Filtrieren bei längerem Kontakt mit der Luft verändert hatte. Die dritte Probe stellte eine der Flaschen dar, die gleich nach dem Verschneiden des Weins mit der so erhaltenen Mischung gefüllt worden waren und seither längere Zeit gelagert hatten. Solange die Flasche verschlossen war, ließ sich bei der Untersuchung dieser dritten Probe nichts Auffälliges erkennen. Aber schon wenige Minuten nach dem Ausgießen des Weins in ein Becherglas bemerkte man darin, am schönsten bei durchfallendem Sonnenlicht, eine leichte Trübung, die durch glänzende farbige Kristalle verursacht schien. Nach längerem Stehen verlor er seine ursprüngliche Transparenz immer mehr, es bildete sich ein irisierendes Oberflächenhäutchen, das sich bei leichtem Rütteln zu Boden senkte. und nach mehreren Stunden war der ganze Farbstoff als violettbrauner Bodensatz präzipitiert, während die darüberstehende Flüssigkeit jene strohgelbe Nuance zeigte, die wir in der Probe II vor uns hatten. Der Geschmack beider Proben war dabei ganz gut; abgesehen von einem an alten Wein erinnernden Bouquet, - dem »goût de rancio« der Franzosen - wies er nichts Besonderes auf. Es konnte somit für uns kein Zweifel bestehen, dass wir es hier mit der zuerst von französischen Autoren als »casse du vin« beschriebenen Rotweinbräune zu tun hatten.

Wenn wir uns in der Literatur über die Ursache dieser Krankheit umsehen, so finden wir darüber mancherlei Anschauungen vertreten. Armand Gautier\*), der als erster 1878 diesen

<sup>\*)</sup> S. Literatur am Schlusse.

Symptomenkomplex genau beobachtet hat, glaubt sie zurückführen zu können auf einen Parasiten, der mit dem von Pasteur als »Filament de la tourne« beschriebenen die größte Ähnlichkeit habe, und den er im Bodensatz des betreffenden Weins immer reichlich nachweisen konnte. Gouirand2) geht einen Schritt weiter und weist experimentell nach, dass die Anwesenheit von Mikroorganismen zum Zustandekommen der so rapiden Farbstoffoxydation keineswegs nötig sei. Es gelang ihm nämlich, aus einem durch eine Chamberlandkerze filtrierten gebräunten Weine vermittelst Alkohol ein Ferment auszufällen, das, einem vorher ganz gesunden Weine zugesetzt, diesen in kürzester Zeit bräunte. Je mehr Ferment zugefügt wurde, desto schneller verlief die Oxydation; hingegen war nach kurzem Aufkochen des Fermentes von einer Wirkung nichts mehr zu beobachten. Damit war das Mittel, durch das die Farbstoffausfällung herbeigeführt wird, als poxydierende Diastase« genau gekennzeichnet; aber wo die Ursache zu einer solchen abnormen Oxydasenbildung zu suchen sei, darüber weiß Gouirand auch bloß Hypothesen aufzustellen. Am plausibelsten scheint ihm doch die Annahme, daß sie von den im Bodensatz eines jeden gebräunten Weines nachweisbaren Bakterien sezerniert werde.

Martinaud³) hingegen will auch diese indirekte Bedeutung der Bakterien für die Weinbräune nicht mehr zugeben. Er wies nämlich nach, daſs Traubenbeeren, die eben süſs werden, in der Nähe des Kerns, der Hülse sowie der Stiele eine Oxydase enthalten, die mit zunehmender Reiſung der Traube sich so vermehren kann, daſs sie die ganze Beere durchsetzt. Im Most ſand er sie immer reichlich vor, nach der Gärung allerdings nur noch spurweise. Immerhin glaubt er, daſs diese Oxydase als die physiologische Vermittlerin der normalen Oxydationsvorgänge im alternden Wein anzusehen sei. In analoger Weise möchte nun Martinaud die »Bräune«, die ja schlieſslich nichts anderes darstellt als ein in abnorm kurzer Frist sich abspielendes Altern des Weins, einzig und allein durch eine Überproduktion von Oxydase in allzureiſen Trauben erklärt wissen.

Ihm schließt sich auch Cazeneuve<sup>4</sup>) an, der allerdings nicht nur durch langes Reifen, sondern auch durch besondere conditions végétatives« eine abnorme Vermehrung der Oxydase in den Trauben annimmt. Er prägt für das Ferment den speziellen Namen »Oenoxydase«, hebt aber ausdrücklich hervor, daß Bertrand geneigt sei, diese mit seiner» Laccase« zu identifizieren.

Von der Erfahrungstatsache ausgehend, dass nach regnerischem Herbstwetter die Bräune besonders häufig beobachtet wird, stellte Laborde<sup>5</sup>) Nachforschungen darüber an, ob nicht die bei der Traubenfäulnis so weit verbreitete Botrytis einerea eine solche Oxydase zu bilden vermöge. In der Tat gelang es ihm, in den mit diesem Schimmel beschickten Kulturmedien massenhaft oxydierendes Ferment nachzuweisen und zu zeigen, dafs, während der Pilz selbst durch die Gärung zerstört wird, sein Sekretionsprodukt ungeschädigt in den Wein übergeht. Befund wurde später von Peglion 6) sowie von Coudon und Pacottet7) bestätigt. Duclaux8) gibt für die Bedeutung der Botrytis einerea einen frappanten Beleg. Die sehr reiche Weinernte des Jahres 1900 zog sich im südlichen Frankreich wegen mangelnder Arbeitskräfte ziemlich in die Länge. Zu Anfang herrschte schönes Wetter, der Wein zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen. Gegen Schluss hingegen trat anhaltender Regen ein, die Trauben bedeckten sich mit grauem Schimmel, und bei dem sonst absolut gleichen Gewächs, das in derselben Gegend zur Reife gekommen war und im selben Keller aufbewahrt wurde, zeigten sich hier überall die Symptome der »casse«. Eine spezifische Wirkung der Botrytis einerea scheint daher nicht von der Hand zu weisen zu sein, aber ebensowenig wird man ihr allein die Fähigkeit der Oenoxydasenbildung zuschreiben dürfen. hält es Duclaux z. B. für sehr wahrscheinlich, daß die Bazillen. die das Bitterwerden des Weins verursachen, auch Oxydasebildner seien, und mit Recht hebt er hervor, dass wenn einmal in der Natur ein solches Ferment existiert, es immer in einer großen Zahl von Organismen zum Vorschein kommt.

Nach diesen vorliegenden Untersuchungen war es somit keineswegs ausgeschlossen, daß mit Hilfe unserer heutigen vervollkommneten bakteriologischen Technik auch für die von Gautier und Gouirand seinerzeit ausgesprochene Hypothese experimentelle Beweise erbracht werden könnten. Herr Prof. Dr. Forster beauftragte mich daher nachzuforschen, ob nicht aus dem uns zur Verfügung gestellten Weine Mikroorganismen herausgezüchtet werden könnten, die — direkt oder indirekt — als Erreger der Weinbräune anzusprechen wären.

Das mikroskopische Bild, das ein Tropfen der Probe I (Bodensatz) darbot, sprach sehr für die Richtigkeit einer solchen Annahme. Zwischen reichlichen Hefezellen, fächerförmig angeordneten Kristallen und amorphen Farbstoffkonkrementen fanden sich nämlich zahlreiche Stäbchen verschiedener Länge und Dicke, bald einzeln, bald in längeren Ketten aneinandergereiht. Sie färbten sich alle nach Gram deutlich positiv.

Es wurden daher zunächst mit diesem Bodensatz Kulturen angelegt. Als Nährboden benutzten wir neben der gewöhnlichen alkalischen 10 proz. Fleischwasserpeptongelatine und dem Nähragar, sauere Bierwürzgelatine und eine 20 proz. Mischung von Rotwein mit Agar. Von diesen Kulturmedien wurden je 8 ccm mit 0,5 ccm des Bodensatzes gründlich gemischt, davon je 3 Verdünnungen angefertigt, zu Platten ausgegossen und bei 300 bzw. 24° bebrütet. Auf den meisten so gewonnenen Plattenkulturen konnten neben den in überwiegender Mehrzahl aufgegangenen Hefen drei verschiedenartige Kolonien erkannt werden. Die einen stellten sich dar als durchscheinende, nabelförmige Gebilde von gelblicher Farbe, anfangs mit glatter, glänzender Oberfläche, nach mehreren Tagen jedoch runzlig zusammensinkend. Die andern glichen morphologisch ganz den eben beschriebenen, bloß zeigten sie eine matt-weiße Färbung. Beide verflüssigten rasch die Gelatine. Die dritte Art bot ein ganz anderes Aussehen. Die langen. dünnen Ausläufer ihrer Kolonien, die sich allseitig wurzelförmig verästelten, erinnerten sehr an das Myzel der Schimmelpilze; sie verflüssigten die Gelatine erst nach einigen Tagen. Mikroskopisch zeigten sich all diese Kolonien zusammengesetzt aus sporentragenden Bazillen. Durch die weitere Differenzierungsmethode, deren eingehende Beschreibung hier wohl erübrigt, ergab sich, dass

wir es zu tun hatten mit dem Bacillus mesentericus fuscus, dem Bacillus mesentericus vulgatus und dem Bacillus ramosus.

Bei der großen Verbreitung dieser Bakterien in der Natur mußeten wir uns natürlich fragen, ob es sich bei unserm Befunde nicht einfach um eine Verunreinigung der Weinprobe handle durch Keime, die der ja nicht sterilisierten Flasche oder dem Korke anhafteten. Um einen derartigen Versuchsfehler mit Sicherheit auszuschließen, entnahm ich persönlich mit geeigneten sterilen Instrumenten direkt aus einem der Fässer im Lagerraum, in vollkommen aseptischer Weise, eine Probe des Bodensatzes. Aber auch hier fanden sich wieder die gleichen Bazillen, ja es konnte sogar noch eine weitere Art herausgezüchtet werden, die sich bei näherer Untersuchung als Bacillus mesentericus ruber zu erkennen gab.

In Anbetracht der Wachstumsverhältnisse, wie sie den Bakterien im Fasse sowohl wie besonders in den Flaschen geboten sind, durften wir uns natürlich mit diesen aeroben Züchtungsergebnissen nicht begnügen. Es wurden daher zur Erzielung anaerober Kulturbedingungen je 10 ccm von Fleischwassergelatine, Bierwürzgelatine und 20 proz. Rotweinagar in Reagenzröhrchen ausgekocht, auf 40° abgekühlt, mit je 0,5, 0,1 und 0,01 des steril entnommenen Bodensatzes vorsichtig vermischt, zum Erstarren gebracht und mit Agar überschüttet. Außerdem wurden, um eine eventuelle Anreicherung im Weine anaerob wachsender Bakterien zu erhalten, zwei Reagenzröhrchen mit je 10 ccm des Weines aus der Probe III gefüllt, evakuiert, mit einem Tropfen des Bodensatzes geimpft und durch Paraffinum liquidum in hoher Schicht von der Luft abgeschlossen. Aus der Kuppe dieser beiden Röhrchen wurde dann nach 2 bzw. 5 Tagen mit der Platinose Material entnommen und damit, genau wie oben, hohe Stiche angelegt. In diesen ebenso wie in den direkt geimpften Kulturen zeigte sich deutliches Wachstum, die Gelatine wurde unter stinkender Gasbildung verflüssigt, im Agar konnten Gasblasen nicht nachgewiesen werden. Das mikroskopische Bild liefs jedoch keine anderen Wuchsformen erkennen als die, die

wir schon bei dem aeroben Plattenverfahren beobachtet hatten. Es lag somit nahe anzunehmen, dass es sich auch hier um die ja fakultativ anaerob wachsenden Kartoffelbazillen handelte, was sich durch das weitere Kulturverfahren in der Tat bestätigte.

Aber wenn die so gefundenen Bazillen die Fähigkeit haben sollten, im Wein ein spezifisches Ferment zu bilden, mußte ihnen vor allem die Möglichkeit gegeben sein, ihre Lebensäußerungen darin zu entfalten und sich zu vermehren, was bei dem hohen Alkoholgehalte unseres Weines (12,14 Volumprozent) von vornherein nicht sehr wahrscheinlich war. Zur Beleuchtung dieser Verhältnisse stellte ich mir eine ie 5, 10, 15, 20 und 25 Volumprozent Alkohol enthaltende Bouillon her und verglich das Wachstum der vier Bazillen darin mit dem in gewöhnlicher Nährbouillon. Um eine Alkoholverdunstung möglichst auszuschließen, wurden die Reagenzröhrchen mit Gummikappen verschlossen und in dem feuchten Medium des Kappenglases in den Brutschrank bei 24-25° gestellt. Die Resultate des Wachstums waren kurz folgende: Bei 5 proz. Alkoholgehalt zeigten alle vier Bakterienstämme eine ungefähr gleichstarke Häutchenbildung wie das betreffende Kontrollröhrchen. Bei 10 proz. Alkoholzusatz bewirkten die Kartoffelbazillen noch deutliche Trübung des Nährmediums mit dickem, fadenziehendem Bodensatz, der B. ramosus zeigte bloß krümlige Agglomerationen in der Reagenzglaskuppe. Auch in den 15 proz. Alkohol enthaltenden Röhrchen war für alle Bazillen noch eine makroskopisch deutlich sichtbare Vermehrung nachzuweisen, wenn sie sich auch auf den Boden des Reagensglases beschränkte. Mit diesem Alkoholgehalt dürfte allerdings der eben noch zulässige Grenzwert gegeben sein; denn in den 20% und 25% Alkohol enthaltenden Medien war von einem merklichen Bakterienwachstum nichts mehr festzustellen. Immerhin scheint mir die Beobachtung, daß es Bakterien gibt, die bei einem Alkoholgehalt des Nährmaterials von 15 Volumprozent sich noch vermehren können, besonderes physiologisches Interesse zu bieten.

Vom theoretischen Standpunkt aus war nun die Möglichkeit gegeben, dass den Kartoffelbazillen und dem Bacillus ramosus

bei der Weinbräune eine spezifische Wirkung zukomme, wenn auch unsere Überlegungen nicht sehr dafür sprachen. Es mußte daher der Versuch gemacht werden, ob nicht bei einem gleichwertigen gesunden Wein vermittelst dieser Bazillen, entweder allein oder miteinander, oder schließlich in Symbiose mit bestimmten Hefearten, vielleicht doch dieselben Erscheinungen hervorzurufen wären, wie wir sie dort vor uns hatten.

Zu diesem Zweck wählten wir einen südfranzösischen Rotwein (Beaujolais), der, wie Cazeneuve4) angibt, besonders leicht von der Braune befallen wird. Von diesem Weine wurden ca. 200 ccm in 10 Pasteursche Kölbchen verteilt und mit jedem der von uns isolierten Bazillen je 2 Kölbchen geimpft. Nun wurde die eine Hälfte der Kölbchen bei 30°, die andere bei 24° gehalten und mit je einem Kontrollkölbchen einige Tage ruhig stehen gelassen. In den höher temperierten Kölbchen zeigte sich schon nach 2 Tagen, in den anderen etwas später, deutliches Wachstum der Bakterien, so daß dadurch allmählich ein trüber Bodensatz entstand. Aber von einer Veränderung des Farbtons oder einer Ausfällung der Farbstoffe war vorderhand nicht die Rede. Es drängte sich uns daher die Vermutung auf, daß eine Oxydasenbildung seitens unserer Bazillen vielleicht blos unter anaeroben Verhältnissen zustande käme. Um dies zu prüfen, beschickten wir 5 sterile Reagenzgläser mit je 12 ccm unseres Versuchsweins, impften mit jedem unserer Bazillen je ein Röhrchen, evakuierten und überschichteten die geimpften Proben ebenso wie das Kontrollröhrchen mit Paraffinum liquidum. Mit Ausnahme des mit dem Bacillus ramosus geimpften Röhrchens war überall deutliches Wachstum erkennbar, aber eine Ausscheidung des Farbstoffes war nicht zu beobachten. Um zu sehen, ob nicht vielleicht beim Kontakt mit dem Sauerstoff der Luft der typische Farbenumschlag einträte, wurde in ca. 14tägigem Intervall mit steriler Pipette aus jedem der Röhrchen etwas Wein entnommen und in ein Uhrschälchen gebracht; indes, auch so war von einer beschleunigten Farbstoffausfällung nichts zu erkennen.

Weiter konnte man daran denken, daß die Bazillen vielleicht nur in Symbiose mit einer ganz bestimmten Hefe ihre deletäre

Wirkung entfalten würden. Deshalb wurden unter denselben Versuchsbedingungen wie oben Röhrchen mit vorher sterilisiertem Wein gefüllt und dieser mit der aus dem erkrankten Weine gezüchteten Hefe und je einem der vier Bazillenstämme beschickt. Indes auch hier wieder bekamen wir das gleiche negative Resultat, bei den aeroben wie bei den anaeroben Kulturen. Endlich impften wir je eine aerob und anaerob gehaltene Probe mit allen im Weine gefundenen Bazillen und der fraglichen Hefe zusammen, - genau mit dem gleichen Misserfolg! Als noch nach 8 Monaten in keinem der geimpften Versuchsröhrchen eine Farbenveränderung gegenüber den Kontrollröhrchen beobachtet werden konnte, mussten wir auf die Hoffnung, in dieser Weise ein positives Resultat zu erzielen, füglich verzichten; denn in dem zur Untersuchung eingeschickten Wein war schon 6 Monate nach dem Keltern die Farbenveränderung so deutlich gewesen, dass sie selbst dem nichtsahnenden Laien aufgefallen war: wie viel eher hätte sie da bei unseren so viel günstigeren Versuchsbedingungen auftreten müssen!

Dass unsere negativen Resultate nicht etwa durch eine außergewöhnliche Widerstandsfähigkeit unseres Versuchsweins bedingt waren, erhellt daraus, dass der direkte Zusatz mehrerer Tropfen der Probe III zu dem gesunden Wein genügte, um schon nach kurzer Frist die typische Farbstoffausfällung in diesem zu veranlassen. Durch diesen Versuch ist das reichliche Vorhandensein eines oxydierenden Ferments in dem erkrankten Wein so deutlich illustriert, dass ich es unterlassen kann, auf unsere Versuche, die Oxydase mit anderen Mitteln nachzuweisen und zu bestimmen, in dieser Arbeit näher einzugehen.

Solange man daran denken konnte, das sporentragende Bakterien bei dem Zustandekommen der Weinbräune eine Rolle spielen, hatte man allen Grund, um eine rationelle und sichere Heilung eines einmal infizierten Weins bange zu sein; denn ein Nutzen des Pasteurisierens war der Sporen wegen ausgeschlossen, an ein mehrstündiges Kochen war des Weines wegen nicht zu denken. So aber, wo eine Beteiligung der Kartoffelbazillen sowie des Bacillus ramosus an der Oenoxydasenbildung nach unseren

Untersuchungen ausgeschlossen werden kann und in dem gebräunten Weine bloß noch das deletäre Ferment selbst, hingegen nicht mehr dessen Produktionsquelle nachweisbar, läst sich voraussehen, das wir imstande sein werden, mit recht einfachen, therapeutischen Massnahmen einen sicheren Heilerfolg zu erzielen.

Schon ehe die Existenz der Oenoxydase experimentell erwiesen war, hatte Bouffard9) gezeigt, dass man dem Braunwerden des Rotweins mit zwei Mitteln begegnen könne. Einmal durch die Pasteurisierung bei 70° bis 75° - je nach dem Säureund Alkoholgehalt des Weins wird die Oxydase früher oder später abgetötet (Bouffard 10) - und dies Mittel wird allgemein als das sicherste anerkannt. Das andere besteht im Zusatz schwefliger Säure zum Wein durch kräftiges Ausbrennen der Fässer vor ihrem Füllen. Über das Wesen der Wirkung der SO2 auf die Oenoxydase standen sich lange zwei Theorien gegenüber. Cazeneuve 11) hatte behauptet - und ihm schlossen sich später Bouffard und Semichon 12) sowie Coudon und Pacottet7) an - die SO, besitze eine spezifisch abtötende Wirkung auf das oxydierende Ferment. Sie stützten sich besonders darauf, dass andere Desinfizientien, wie z. B. das Formalin, das Braunwerden des Weins ganz unbeeinflusst lassen und dass ferner aus einem mit SO2 vorbehandelten Weine keine Oxydase mehr ausgefüllt werden könne. Dieser Anschauung trat Laborde 18) von Anfang an aufs entschiedenste entgegen; er hatte nämlich beobachtet, dass während ein pasteurisierter gebräunter Wein nicht mehr O2 absorbiert wie ein gesunder, ein mit SO, behandelter noch ebensoviel O, in sich aufnimmt wie ein kranker. Ferner gelang es ihm, im Gegensatz zu Bouffard14) zu zeigen, dass aus einem bei Luftabschluss mit SO2 versetzten Weine noch sehr wohl Oxydase gewonnen werden kann, dass es also im letzten Grunde nicht die SO2 ist, die die Oxydase zerstört, sondern der O, der Atmosphäre. Mit dieser Anschauung stimmt auch die Beobachtung Coudons und Pacottets7), daß durch kräftiges Lüften des Mostes vor Beginn der Gärung einer späteren deletären Oxydasenwirkung mit Sicherheit vorzubeugen ist. Aber wie erklärt sich dann die unzweifelhaft kurative Einwirkung der SO<sub>2</sub>? Laborde <sup>16, 16</sup>) nimmt an, daß in den zur Bräune neigenden Weinen die beiden kolloidalen Körper, Farbstoff und Oxydase, bei Luftabschluß eine lösliche Verbindung bilden, die durch Sauerstoffzutritt an der Luft in eine unlösliche Modifikation übergehe. Er glaubt, daß bei Anwesenheit freier schwefliger Säure jene Verbindung gespalten und damit die schnelle Oxydation der Chromogene des Weins an der Luft verhindert werde. Der Sauerstoff wirke nunmehr bloß auf die zunächst oxydierbaren Bestandteile, Oxydase und SO<sub>2</sub>, diese werden zerstört und damit ist der Wein gesund. Mit dieser Hypothese dürfte wohl die beste Lösung der komplizierten Frage gegeben sein; soweit mir die Literatur zugänglich war, ist sie jetzt auch allgemein anerkannt.

Dafs wir in der Tat in der schwefligen Säure ein ausgezeichnetes Heilmittel für die Weinbräune besitzen, davon konnten wir uns auch in unserem Falle evident überzeugen. Während nämlich, wie schon eingangs erwähnt, die rein empirisch angewandten Aufhellungsmethoden (Filtrieren, Verschneiden mit gesundem Wein) mehr geschadet als genutzt hatten, wurde der Wein in kurzer Zeit klar, nachdem er auf unseren Rat hin in Fässer abgefüllt worden war, die vorher mit ca. 2 g Schwefel pro Hektoliter Fafsraum ausgebrannt waren. Seither ist er vollkommen gesund geblieben. Gerade wegen der Einfachheit und sichern Wirkung dieser therapeutischen Mafsnahmen kann die hohe Bedeutung der richtigen Diagnose der Weinbräune nicht nachhaltig genug betont werden.

Fassen wir zum Schluss die Ergebnisse unserer Untersuchungen kurz zusammen, so sehen wir, das es sich bei dem Weine, der uns zur Prüfung eingereicht worden war, um die sogenannte Bräune des Rotweins handelte. Es ist bekannt, das dieser Symptomenkomplex durch ein im gebräunten Weine reichlich vorhandes oxydierendes Ferment ausgelöst wird. Aber wo ist die Bildungsstätte dieser Oenoxydase zu suchen? Unsere Vermutung, das sie von Mikroorganismen sezerniert werde, die im Fass oder in den Flaschen ihre parasitäre Tätigkeit entwickelten, bewahrheitete sich nicht. Es konnten zwar aus dem

Bodensatz des erkrankten Weins vier Bazillen herausgezüchtet werden, die alle in einem bis zu 15% Alkohol enthaltenden Kulturmedium noch Wachstum zeigten, aber unsere mannigfaltigen Versuche, mit ihnen bei einem gesunden Wein die typischen Krankheitserscheinungen hervorzurufen, schlugen durchweg fehl. Hingegen spricht die Geschichte unseres Weines sehr dafür, daß die Botrytis einerea bei der Oenoxydasenbildung eine ausschlaggebende Rolle spiele; in prophylaktischer Hinsicht muß daher auf die Ausmerzung schimmliger Trauben unbedingt Gewicht gelegt werden.

Die richtige Diagnose vorausgesetzt, können wir die Bräune des Rotweins als eine leichte Krankheit bezeichnen, da wir im Pasteurisieren und im Behandeln des Weins mit schwefliger Säure sicherwirkende Heilmittel besitzen.

Es sei mir gestattet, Herrn Professor Dr. Forster für die Anregung zu dieser Arbeit und für das Interesse, das er ihr jederzeit entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

# Literatur.

- A. Gautier, Sur une maladie du vin non encore décrite. Compt. rend. de l'Acad. d. sc. t. 86, 1878, p. 1338.
- G. Gouirand, Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés.
   C. A. sc. t. 120, 1895, p. 887.
- V. Martinaud, Action de l'air sur le moût de raisin et sur le vin, C. A. sc. t. 121, 1895, p. 502.
- P. Cazeneuve, Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. C. A. sc. t. 124, 1897, p. 406.
- 5. J. Laborde, Sur la casse des vins. C. A. sc. t. 123, 1896, p. 1074.
- V. Peglion, Etudes sur la pourriture des raisins causée par le Botrytis cinerea. — Revue internationale de viticulture et d'oenologie, 1895, p. 414.
- H. Coudon et P. Pacottet, Contribution à l'étude de la casse. Zitiert nach Kochs Jahresber. XIII, 1902, S. 315.
- 8. E. Duclaux, Traité de Microbiologie t. IV, 1901.
- 9. A. Bouffard, Sur le cassage des vins. C. A. sc. t. 118, 1894, p. 827.
- A. Bouffard, Observations sur quelques propriétés de l'oxydase des vins. C. A. sc. t. 124, 1897, p. 706.
- P. Cazeneuve, Sur quelques propriétés du ferment de la casse des vins. C. A. sc. t. 124, 1897, p. 781.

- 392 Über die sog. Bräune des Rotweins. Von Dr. A. Hamm.
- A. Bouffard et L. Semichon, Contribution à l'étude de l'oxydase des raisins. Son utilité dans la vinification. C. A. sc. t. 126, 1898, p. 423.
- J. Laborde, Sur l'absorption d'oxygène dans la casse du vin. C. A. sc. t. 125, 1897, p. 248.
- A. Bouffard, Action de l'acide sulfureux sur l'oxydase et sur la matière colorante du vin rouge. C. A. sc. t. 134, 1902, p. 1380.
- J. Laborde, Sur l'action de l'acide sulfureux contre la casse des vins.
   C. A. sc. t. 134, 1902, p. 723.
- J. Laborde, Sur la guérison de la casse des vins par l'addition d'acide sulfureux. C. A. sc. t. 135, 1902, p. 116.

# Untersuchungen über die Bekleidung von Arbeitern in verschiedenen Lebensumständen.

Von

Dr. S. J. de Lange, prakt. Arzt zu Amsterdam.

(Aus dem Hygienischen Institut der Amsterdamer Universität.)

Da es, wie ich schon im vorigen Jahre plante¹), mein ursprünglicher Zweck war, Untersuchungen anzustellen über die volkstümlichen Kleidertrachten, und ich jetzt dieser ursprünglichen Absicht nicht nachkomme, bin ich den Lesern dieser Zeitschrift schuldig, ihnen zu erläutern, durch welche Ursache mein früherer Wunsch sich geändert hat. Ich hatte doch, wie schon vorher gesagt, die Hoffnung, daſs es mir gelingen würde, aus den verschiedenen Kleidertrachten ein oder mehrere Beispiele zu wählen, die nicht nur äuſserlich in ihren Oberkleidern durch Schnitt und Schmuck, sondern auch in ihren Unterkleidern charakteristischen Unterschied auſweisen würden, so daſs ich in bezug auſ ihre Lebensweise und ihre Arbeit auſ zweckmäſsige Anpassungen hatte deuten können. Leider wird man im weiteren sehen, daſs mir das nur in einem Fall gelungen ist²).

<sup>1)</sup> Archiv f. Hygiene, Bd. 51, S. 221.

<sup>2)</sup> Die Anweisungen über die Bekleidungsverhältnisse der verschiedenen Stämme, die unser niederländisches Volk zusammenstellen, verdanke ich dem zu früh verstorbenen Dr. jur. J. E. van Someren Brand, z. Z. Direktor des hiesigen städtischen Museums, der durch seine ausgiebigen Studien über die Bekleidungsfrage, soweit es volkstümliche Trachten gilt, am besten imstande war, mich auf den guten Weg zu führen.

Übrigens möchte ich hier noch erörtern, dass in dieser Abhandlung nur Rechnung gehalten ist mit der Bekleidung der Männer, obwohl zwischen den volkstümlichen Kleidertrachten die Bekleidung der Weiber weit größere Unterschiede aufzuweisen sind.

Die Ursachen sind mehrere:

Erstens ist die Bekleidung der Frauen, auch bei Volkskleidertrachten, weit mehr gebunden an die allmächtige Mode; findet man doch z. B. in Zeeland das eine Jahr tief ausgeschnittene Hals und Rückenbekleidung und sehr kurze Ärmel, ein anderes Jahr lange Ärmel und hohe Kragen, was vom hygienischen Standpunkte natürlicherweise einen großen Unterschied macht.

Zweitens ist die Analyse einer Frauenkleidung aufserordentlich viel schwieriger als die der männlichen.

Drittens haben die Weiber keine so konstante Arbeit wie die Männer, so dass von einer ökonomisch-hygienischen Beurteilung kaum die Rede sein kann.

Ehe ich hier meine Zahlen vorführe, möchte ich einen kleinen Abstecher machen auf dem Gebiete der Anthropologie. Das niederländische Volk besteht hauptsächlich aus drei Stämmen: Friesen, Sachsen und Franken, die von drei verschiedenen Seiten eingewandert, die ursprüngliche, autochthone Bevölkerung in sich aufgenommen haben<sup>1</sup>).

Diese Stämme haben sich untereinander sehr gemischt, und in den Großstädten findet man dazu noch Mischungen mit allen Völkern der Welt: Juden, Japanesen, Malayen usw., wohl hauptsächlich durch den Weltverkehr, den die Vereinten Provinzens schon seit Jahrhunderten gehabt haben. Doch ist es ohne Schwierigkeit möglich, die drei Hauptstämme nach ihrem Wohnsitz zu unterscheiden. Die Friesen sind Bewohner des Nordens und der Meeresküsten; man findet sie bis Duinkerken. Die Sachsen, nahe verwandt mit den Wenden, sind vom Osten gekommen;

Prof. Louis Bolk hat eine andere Auffassung, nur aber insoweit, als er meint, daß die Franken — die alpine Rasse, wie er sie nennt — die eigenliche autochthone Bevölkerung sind. Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde, 1905, Heft I, S. 1991.

man findet sie daher in den Provinzen Overyssel, Gelderland und Dreuthe. Die Franken bewohnen ausschliefslich die südlichen Provinzen Limburg und Nord-Brabant.

Drei Viertel unseres Volkes gehören dem friesischen Stamme zu. Die Friesen sind lang und schlank, haben ein feines Skelett und eine sehr zarte Haut. Sie leben von Viehzucht, Handel und Fischerei und halten mit besonderem Stolz auf ihre Herkunft und auf ihre Volkseigentümlichkeiten.

Das am meisten charakteristische Kleidungsstück der Friesen ist die Kappe, und mit vollkommener Sicherheit kann man sagen. dass dort, wo ein Kopfeisen (wohl auch Ohreisen genannt) getragen wird, das Volk von friesischem Blute ist. Das goldene oder silberne Ohreisen der friesischen Frauen wurde ursprünglich auch von Männern getragen und ist entstanden aus dem Bedürfnis, die Haare zusammenzuhalten, damit sie nicht vor den Augen hängen würden. (War es doch im Mittelalter ein Zeichen von Adeltum und freier Geburt, wenn man die Haare lang und frei trug.) Zu diesem Zwecke gebrauchte man zuerst ein Band aus Binsen geflochten, später war es ein schmaler Ring von Eisen. Damit der Ring sich besser an den Kopf anschmiege, hat man ihn vorne getrennt, und weiters hat man die beiden Vorderenden umgebogen, damit nicht die Haut des Vorderhauptes dazwischen geklemmt und eventuell lädiert wurde. Das auf diese Weise entstandene Bändchen ist nachher nicht mehr von Eisen, sondern von Silber und Gold gemacht, und die umgebogenen Spitzen sind transformiert in zum Schmuck dienende Knöpfe, die in vielen Variationen unter sehr verschiedenen Namen bekannt sind. Friesland hat weiter der immer zunehmende Luxus das damals schmale Bändchen zu einem so breiten goldenen Band gemacht, dass es das ganze Hinterhaupt umfasst, in anderen Gegenden dagegen, z. B. im Amsterdamer Maagdenhuise ist das Band ganz oder fast ganz vergessen und findet man als Rudimente nur noch die vorderen Enden, »Stift« genannt, übrig, die an die aus Leinenspitzen gemachte Haube befestigt sind.

Diese friesische Tracht ist so beliebt, daß auch Nichtfriesen, aber in Friesland geborene oder Personen, die lange Jahre in 396

Friesland gewohnt haben, das Kopfeisen tragen: öfters begegnet man auch außerhalb Frieslands Jüdinnen mit friesischen Ohreisen und der dazu gehörigen Spitzenhaube.

Es gibt nur einen friesischen Stamm, der, obwohl in seiner übrigen Kleidertracht vielleicht am meisten der ursprünglichen treu geblieben, kein Ohreisen trägt. Es sind dies die Bewohner der Insel Marken, die immer sehr isoliert geblieben sind und so viel wie keine Mischungen mit anderen Stämmen aufweisen. Die Tatsache, daß die Bevölkerung von Marken fast ausschließlich vom Fischfang lebt und ihre Bekleidung sich seit Jahrhunderten dem Zweck entsprechend gezeigt hat, ist die Ursache, daß ich die Marker Kleidung als Versuchsobjekt ausgewählt habe. Daneben ist diese Nationalkleidung die einzige, die nicht dem Wechsel der Mode unterworfen ist, die Kopfbedeckung ausgenommen, die bisweilen aus einem Filzhut, oft auch aus einer Astrachanmütze besteht.

In der Marker Kleidung habe ich also den ersten Typus gesehen, den ich brauchte: den Typus des Arbeiters, der auf dem Wasser seine Arbeit zu erledigen hat.

Der zweite Hauptstamm des niederländischen Volkes wird durch die Sachsen gebildet. Wie gesagt sind die Sachsen nahe verwandt an die deutschen Wenden und bewohnen hauptsächlich Sandgründe. Man findet sie in Overyssel und Drenthe, aber auch in einem Teil der Provinz Zeeland, wo sie protestantisch geblieben sind, obwohl die übrige Bevölkerung Zeelands katholisch ist. Die Sachsen sind kurzer, gedrungener Statur, sie haben einen brachycephalen Schädel, die Haupthaare sind aschblond, die Augen Sie sind echte Landbewohner, keine Händler oder Fischer, niemals Seeleute, dagegen beschäftigen sie sich gern mit der Ausübung der Industrie, zumal mit Weberei und Spinnerei, und ein großer Teil Overyssels (Twente) blüt durch diese Industrie. Die Weiber tragen kein Ohreisen, sondern eine einfache Haube, die bei jungen Mädchen mit einer Straufsfeder versehen ist. Die Kleidung der Männer hat aber so wenig Typisches, dass meine Hoffnung, unter den verschiedenen Bekleidungsformen der Sachsen einen Typus zu finden, für die Kleidung des Arbeiters, der zu Hause

sein Brot verdient, nicht erfüllt wurde, was in den industriellen Zentren Overyssels doch übrigens nicht unwahrscheinlich war.

Ich war also gezwungen, an anderer Stelle meinen Typus zu suchen, und ich war so glücklich, denselben zu finden im Amsterdamer » Werkhuis«, das Institut, wo Leute aufgenommen werden, die sich im Leben der Großstadt nicht zurechtfinden können, die keine Arbeit finden oder durch Trinken und andere Ursachen nicht mehr imstande sind, draußen ihr Brot zu verdienen. Dort bekommen sie Wohnung, Speisen und Kleidung, aber sie sollen, soweit das möglich ist, arbeiten, immer aber zu Hause. Ihre Bekleidung, die jetzt auch schon über hundert Jahre dieselbe ist, bildet meinen zweiten Typus des zuhause arbeitenden Menschen.

Schließlich hoffte ich unter dem dritten, dem fränkischen Stamme, den Arbeiter zu finden, der im Freien arbeitet, zumal sich unter der fränkischen Bevölkerung viele solcher Arbeiter finden lassen. Es ist mir aber nicht gelungen, die Kleidung eines der Franken entstammenden Arbeiters zu bekommen und die Spezimina, die sich im hiesigen Reichsmuseum vorfinden, dürfen natürlich nicht zu Versuchszwecken verwendet werden. Ich habe mich also zufrieden stellen müssen mit der Bekleidung eines gewöhnlichen Grundarbeiters ohne ausgesprochene Rassen kennzeichen, eine Bekleidung, die aber für sich genügend typisch ist und sich bei Arbeiten desselben Geures so ziemlich auf dieselbe Weise wiederholt.

Zu Vergleichszwecken habe ich dann und wann Zahlen angeführt, die sich auf eine gewöhnliche moderne Herrenkleidung beziehen, die eigens von mir untersucht worden ist.

# I. Arbeiter, die meistens auf dem Wasser arbeiten. (Typus Marker Originalkleidung.)

Jedermann, der wohl einmal in Holland war oder auch nur holländische Porzellangemälde oder holländische Ansichtskarten gesehen hat, kennt den Marker Fischer mit seiner überaus typischen Kleidertracht. Die umstehende photographische Aufnahme wird das ohnehin noch einmal deutlich machen (Fig. 1)<sup>1</sup>). Und

<sup>1)</sup> Die Zahlen neben der Figur deuten in cm die Dicke der Bekleidung in eitu an.

nicht nur die Oberkleidung ist so eigentümlich, sondern auch die Unterkleidung, wie Fig. 2 und 3 zeigen.

Seine Jacke ausgenommen, trägt der Marker nur wollenes Zeug, die Jacke besteht aus dicker gestreifter Baumwolle. Wir wollen jetzt die Kleidertracht eingehender studieren und beginnen dazu mit der ersten Bekleidungsschicht, die dem Körper am



Fig. 1.

meisten anliegt. Wir sehen, daß diese Schicht geformt wird durch ein dickes wollenes (in Holland »baais genanntes) Hemd mit langen Ärmeln.

Der Stoff mifst mit dem Rubnerschen Dickmesser ohne Belastung 1,68 mm, mit 125 g pro qem 1,24 mm, und mit 250 g pro qem 1,15 mm.

Über das wollene Hemd zur Bekleidung der Beine kommt die Unterhose, die ziemlich geräumig ist und unter den Knieen mit Bändchen festgebunden wird. Sie ist angefertigt aus dünnem blauem wollenen Zeug, das in seiner Webart dem sog. Sportflanell nahesteht,

Die Beinbekleidung der

Unterbeine besteht weiter aus schwarzwollenen Strümpfen mit Sohlenbekleidung aus dickem Stoff. Die Holzschuhe werden immer noch vor der Türe ausgezogen und die Sohlenbekleidung dient nur, um die Strümpfe vor schneller Abnutzung zu schützen.

Im Winter wird unter den schwarzwollenen Strümpfen ein Paar weiße, baumwollene oder auch weiße wollene Strümpfe getragen, die nur wenig dünner sind als die schwarzen. Am Rumpf wird weiter über das wollene Hemd ein Bauchgürtel getragen, der ebenfalls aus doppeltem wollenem Zeug besteht, an der inneren Seite grau, an der äufseren Seite blau. In Holland nennt man einen solchen Bauchgürtel, der die Weste ersetzt, >Gesundheits. Er wird an einem Hosenträger getragen, damit er nicht zu stark um den Leib schnüren soll. Die



Fig. 2.

Dicke ist ohne Belastung 3,335 mm. Über dieser an sich schon ziemlich dicken Schicht folgt nun die zweite Schicht, der Leibrock, bestehend aus doppeltem wollenen Zeug (Wollbaai), beides von roter Farbe, mit langen Ärmeln. Die Dicke dieses Kleidungsstückes ist ganz enorm, 5,38 mm ohne Belastung, d.h. fast so viel wie Flanell, Hemd und Weste der modernen Kleidung zusammen.

Diese drei ersten Schichten messen zusammen 10,33 mm, bei gewöhnlicher Herrenkleidung 5,82 mm. Als zweite Beinbekleidung folgt nun die enorm geräumige Hose aus englischem Leder, die ebenfalls an den Knien abgeschlossen ist oder bis halbwegs dem Unterbein offen getragen wird. Diese Hose ist nicht so dick, aber sehr fest, sie misst 1,125 mm ohne Belastung. Schließlich kommt die baumwollene Jacke, die aber während der Arbeit oft nicht getragen wird und



Fig. 3.

also mehr als Schmuck betrachtet werden kann. Die Jacke mifst 0.97 mm.

Weiter gibt es nur noch eine Kravatte, die sicherlich für die Bekleidungsfrage keinen Wert hat und also vernachlässigt werden kann, und die variable Kopfbekleidung. Wenn man dem Gewicht der Marker Kleidung nachgeht (siehe Tabelle I) und die verschiedenen Zahlen zusammenzählt, kommt man zu mehr als 6 kg, was im Vergleich der anderen Bekleidungsformen sehr viel ist, weil die Zahlen dabei zwischen 3 und 3,5 kg schwanken. Dabei ist aber in Betracht zu ziehen, dass der Marker niemals einen Winterüberzieher gebraucht, und dass

er bei jeder Witterung sich in seiner Kleidung zurecht finden muß, daß er in seinem kleinen offenen Schiff keine Gelegenheit, sich bei kälterer Luftströmung umzukleiden, höchstens kann er sich bei Regen bedecken mit einer aus Segeltuch gemachten Jacke und einem Hut aus demselben Stoffe. Er tut das aber ungern und nur im Notfall, weil bei dieser Bekleidung so schnell Wärmestauung auftritt. Nehmen wir aber das Gewicht des Überziehers und addieren das bei den anderen Kleidungsformen zu der Totalsumme, so werden die Zahlen wohl ziem-

lich gleich: 6230 g der Marker gegen 6405 g der modernen Kleidung.

Tabelle I.

Marker Kleidertracht (Fischer).

		Die	ke in m	m	Kapazi-	Permer	billione		
	Ge- wicht in g	Ohne Be- lastung	Mi 125 g Belas pro e	250 g tung	tät für Wasser- auf- nahme	trok- kenen Zusta	nas- sen	Spez. Gew.	Poren- volum
Hemd (Rot. woll, Zeug)	1055	1,68	1,25	1,15	850,6	184	172	108,4	916,6
Leibrock (mit Kravatte)  (Doppeltes rotes wollenes Zeug)	1730 (10)	5,38	4,435	4,225	1046	178	167	187,5	855,8
Bauchgürtel = Weste	630	3,335	2,73	2,54	941	136	121	215,4	834,4
(Doppelt. graues wollenes Zeug)		l							
Jacke = Frack (GestreifteBaum- wolle)	370	0,97	0,72	0,66	1384	194	108	355	726,4
Totale Rumpf- bekleidung.	3785	11,865							
Unterhosen (Dünnes blaues wollenes Zeug)	620	0,94	0,755	0,72	820,4	157	146	333,4	743,9
Hosen (Englisch, Leder)	995	1,125	0,91	0,825	487	169	105	465	642,3
Strümpfe (Wolle, imWinter 2 Paar)	830	2,11	2,02	1,94	1231	191	178	107,1	922,5
Total	6230		j						
Winterüberzieh.	keine	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	6230								

Immerhin ist im Sommer die Marker Kleidertracht als eine sehr schwere anzusehen, legt er doch nur seine weißen Strümpfe ab, was das Totalgewicht auf nur 5980 g verringert.

Gehen wir nun nochmals nach, welche Eigentümlichkeiten uns diese Kleidung bietet, dann trifft uns sogleich die Tatsache, daß die Dicke und Fülle der Bekleidungsstoffe am Rumpfe am meisten ausgeprägt ist. Man bekommt den Eindruck, als wäre die Beinbekleidung unzweckmäßiger besorgt als die übrigen Teile der Bekleidung. Doch ist das keineswegs der Fall und sind diese Verhältnisse auf ganz einfache Weise aufzuklären. Erstens sind bei jeder Bekleidungsform die muskulären Teile weniger bekleidet als die Bauch- und Brusteingeweide. Die Ursache ist, daß die Muskeln bei jeder Bewegung Wärme produzieren, während die Organe das nur unter gewissen Umständen, z. B. nach Mahlzeiten, machen.

Die Hose ist, wie aus der Figur deutlich ersichtlich ist, so beschaffen, daß sich eine dicke Luftschicht zwischen ihr und der Unterhose befindet, und, wie bekannt, spielt die Luft als schlechter Wärmeleiter in der Bekleidungsfrage die größte Rolle, wenn sie nur stillesteht oder sich doch nur ganz wenig bewegt.

Eben deswegen braucht die umgebende Bekleidungsschicht nicht dick zu sein, wenn sie nur nicht zu permeabel ist. Übrigens ist es auch begreiflich, daß man die Beinbekleidung unmöglich so dick machen kann wie die Rumpfbekleidung, würde man doch dadurch die Beweglichkeit zu sehr einengen.

In dieser Bekleidungsform findet weiter die Absorption von Wasser ohne Verlust der Permeabilität den größten Ausdruck, wie aus der Tabelle ersichtlich ist in den Ziffern über die Permeabilität in passem Zustande.

# II. Der Hausarbeiter. (Fig. 4 und 5.)

Die Kleidung der Hausarbeiter unterscheidet sich, das Äußerliche ausgenommen, im wesentlichen nur wenig von der modernen Kleidung. Wie schon gesagt, ist als Beispiel genommen die Bekleidung der Bewohner des Amsterdamer ≯Armenhuis€. Hiermit haben wir wohl nicht eine freie Wahl der Kleidertracht, aber in anderen Fällen von volkstümlichen Trachten ist das auch nicht der Fall; der Sohn nimmt dieselbe Bekleidungsweise an als der Vater schon immer gehabt hat, die Gewohnheit übernimmt hier die Rolle des Zwanges. Die Kleidung der Armenanstalt besteht aus einem grobleinenen Hemd, das sehr lang ist: die Maße des mehrmals gewaschenen Stoffes sind, unbelastet, 0,62 mm, mit Belastung von resp. 125 g und 250 g pro qcm 0,49½ und 0,44 mm. Darüber kommt ein Leibrock aus dickem baumwollenem Köper im Maße von 1,21 mm, und 0,99, 0,94 mm bei Belastung. Die Unterhose reicht bis an das Knie (siehe Fig. 5)

und besteht aus demselben baumwollenen Köper. Hose und Jacke sind aus ›Pilo‹ (Englischem Leder) mittlerer Qualität (1,03 mm, 0,885 mm und 0,84 mm sind die Maße mit und ohne Belastung). Die Permeabilität dieser Stoffe ist immerhin noch hoch, wenn auch nicht so hoch wie die Permeabilität der Fischer-Rumpfbekleidung.

Die Stoffe sind sehr haltbar und leicht waschbar, was für







Fig. 5.

eine Anstalt von großem Interesse ist; in dieser Aufsicht übertrifft diese Kleidertracht die Fischerkleidung bedeutend, denn da sind die Bekleidungsstoffe schwer waschbar. Schrumpfen sie ein nach dem Waschen, so verlieren sie einen größeren Teil ihrer guten Eigenschaften. Daher werden die Fischerkleider denn auch sehr wenig gewaschen. Wenn wir nachgehen, welche Anforderungen an die Kleidung der Hausarbeiter gemacht werden dürsen, so glaube ich, das geringe Schwere bei bequemem Sitz

#### 404 Bekleidung von Arbeitern in verschiedenen Lebensumständen.

und nicht zu übertriebener Schutz gegen Wärme und Kälte die Hauptsache bilden. Starke Temperaturwechslungen kommen im Hause wohl nicht vor, und man hat jedenfalls Gelegenheit, sich, so wenig man nur wünscht, denselben auszusetzen. Mit diesen Anforderungen kommt die oben geschilderte Kleidung sehr gut überein und konnte sie wohl als Vorbild den meisten Hausarbeitern vorgehalten werden, die oft, wenigstens in Holland, viel zu viel Kleider tragen, was teuer und zugleich unzweckmäßsig ist.

Tabelle II. Kleidung der Armenanstalt (Hausarbeiter).

		Die	eke in m	tn	Kapazi-	Permer	3,01500.0		
	Ge- wicht in g	Ohne Be- lastung			tät für Wasser- auf- nahme	trok- kenen Zusta	nas- sen	Spez <sub>é</sub> Gew.	Poreu-
Hemd (Rohleinen)	500	0,62	0,495	0,445	816,3	175	160	555,4	572,8
Leibrock (mit Kravatte) (Dick. baumwoll. Köper)	689 (72)	1,21	0,99	0,95	461	169	148	325,9	750,1
Bauchgürtel . (Dick. baumwoll. Köper)	(2751)	(1,29)	(1,00)	(0,96)	(434)	(163)	(132)	(325,9)	(750,1
Jacke (Englisch, Leder)	606	1,03	1,07	4,83	193	162	144	439	662,8
Totale Rumpf- bekleidung.	1020 (1295)	2,86 (4,15)							Te.
Unterhosen  (Dick, baumwoll, Köper)	507	1,21	0,99	0,94	461	169	148	325,9	750,1
Hosen	610	1,03	0,885	0,84	1138	163	64	485	627
Strümpfe . (Wollen)	285	1,78	1,54	1,43	971	188	176	148,3	886
Total ,	3097 (3372)								0 -
Winterüberzieh.	keine	-	y -	-	-	_		-	Cities.
Total	3097 (3372)					()			171

<sup>1)</sup> Fakultativ, wird nur gegeben auf Vorschrift des behandelnden Arztes.

### III. Der Grundarbeiter. (Fig. 6 und 7.)

Die Kleidung der Grundarbeiter bietet wieder ganz andere Eigentümlichkeiten. Obwohl ihr Gewicht ohne Überzieher fast gleich moderner Herrenkleidung ist (3475 g), bleibt das Gewicht mit Überzieher (5530 g) weit niedriger als die verschiedenen anderen Kleidertrachten. Die Ursache ist, dass die Rumpsbeklei-





Fig. 6.

Fig. 7.

dung hier ungefähr so ist wie die Beinbekleidung der Fischer.

Das Eigentümliche ist die wenig permeable Oberkleidung im Gegensatz zu der sehr permeablen Unterkleidung. Wenn man aber die Anforderung in Betracht zieht, die bei diesen Arbeitern an die Kleidung gemacht werden, so wird es deutlich, warum die Kleidung eben so ist. Die Leute haben schwere Arbeit zu leisten, wobei sie schnell und viel schwitzen, daher brauchen sie Archiv für Hygiene. Bd. LVI.

Unterkleider, die den Schweifs gut resorbieren und permeabel bleiben. Zu diesem Stoffe gehört an erster Stelle der dicke graue baumwollene Molton, der als pseudo Jägerwollen-Stoff unter den billigeren Kleidungsstoffen sehr viel gebraucht wird. Hemd und Unterhosen sind aus diesem Stoff angefertigt. Ich mache hier nochmals aufmerksam, daß der Fischer in seinem engen Schiffe gar nicht so viel Bewegung zu machen hat, und daß die körperliche Anstrengung bei der Ausübung seines Berufs sicherlich nicht fortwährend so groß ist wie die des Grundarbeiters.

Um die Wärme zu erhalten und doch nicht zu schwere Kleider zu tragen, sind die Oberkleider von einem ziemlich impermeablen englischen Leder angefertigt, mit nur einer dünnen Zwischenschicht aus Sportflanell. Die Jacke schließt aber nicht an dem Körper an, sondern es bleibt eine große Luftschicht zwischen den Kleidern, eine vorteilhafte Einrichtung, wie ich schon oben bei den Fischerhosen besprochen habe. Zweitens aber haben die Grundarbeiter, zumal in unserem Vaterlande fast immer im Wasser zu arbeiten und bekommen sie dazu noch viel Regen. Es ist also ebenfalls notwendig, daß der äußerliche Schutz gut sei, daß die Oberkleider mehr oder weniger impermeabel seien. Bei ihrer Arbeit haben sie denn auch meistens Stiefel, die bis an das untere Drittel des Oberschenkels reichen und außerdem sind Hose und Jacke, wie schon gesagt, von einem festen »Pilot.

Die Zahlen, wie sie in Tabelle III zu finden sind, beweisen das übrigens aufs einfachste, weiter unten ist auf Tabelle V angegeben die Dicke der Kleidungsstoffe samt den dazwischen befindlichen Luftschichten, so wie sie sich an verschiedenen Stellen des Körpers vorfinden, wenn die Kleidung im Gebrauch ist.

(Siehe Tabelle V auf S. 410.)

Die Gesamtdicke der Stoffe findet sich daneben in der dritten Kolonne, sowie die Abziehung von dem Gesamtwert, damit man sehen kann, wieviel die Dicke der dazwischen gelegenen Luftschicht war. Weiter unten werde ich hierauf näher eingehen.

Tabelle III. Kleidung der Grundarbeiter.

		Die	eke in n	nm	Kapazi-	Darma	abilität		
	Ge- wicht in g	Ohne Be- lastung	125 g Belas pro	250 g tung	tät für Wasser- auf- nahme	im trok- nas- kenen sen Zustande		Spez. Gew.	Poren
Hemd (Dicker baumw. Molton)	900	2,50	1,63	1,395	796,8	184	176	175,8	872,5
Leibrock (m. Kravatte) (Sportflanell)	255 (45)	0,70	0,42	0,375	588	99	91	292,3	775,2
Bauchgürtel .	keine	-		-	-	-	-	-	_
Jacke (Englisch, Leder)	770	1,07	0,78	0,70	736	124	58	381,5	706,6
Totale Rumpf- bekleidung.	1925	4,27							
Unterhosen (Dünner baumw. Molton)	370	1,69	1,16	1,01	653	187	166	117,13	909,9
Hosen (Englisch Leder)	940	1,75	1,37	1,27	569	121	55	439,1	661,3
Strümpfe (Wollen)	245	1,67	1,45	1,38	1042	183	170	149	886
Total	3475								
Winterüberzieh. (Englisch. Leder)	2055	1,83	1,67	1,61	583	118	63	493,4	620,5
Total	5530								

# Vergleichung der verschiedenen Arbeitertrachten mit der modernen Herrenwinterkleidung.

Zur bequemeren Vergleichung habe ich in Tabelle IV die Zahlen vorgeführt, welche die Untersuchung eines modernen Winteranzugs für Herren gegeben hat.

Wenn wir denn schliefslich nochmals die verschiedenen Bekleidungsformen, die wir oben beschrieben haben, nebeneinander stellen und ihre verschiedenen Eigenschaften untereinander vergleichen, dann sehen wir, daß jedesmal durch den Gebrauch seit Jahrhunderten auf empirischem Wege eine Bekleidungsform gefunden ist, die für die Umstände am meisten passend ist.

Tabelle IV.

Moderner Winteranzug für Herren.

		Die	eke in m	m	Kapazi-	Dorman			
and the state of t	wicht in g	Ohne Be- lastung	Mi 125 g Belas pro	250 g tung	test for Wasser- auf- nahme	trok- kenen	nas- sen	Spez. Gew.	Poren
Flanell (Wollstoff)	210	0,705	0,56	0,49	1171	179	132,5	297,5	771,2
Hemd , , . (m. Kravatte)	320 (30)	0,34	0,27	0,24	643	127,9	91,6	669	485
Weste (Cheviot)	360	4,78	3,87	3,52	471	171	141	158,7	887,
Frack (Cheviot)	1340	4,88	3,76	3,48	471	171	141.	158,7	887,0
Totale Rumpf- bekleidung	2230	10,655							
Unterhosen (Baumw. Trikot)	290	1,42	1,16	0,81	754	170	134	184,1	858,4
Hosen (Cheviot)	820	4,81	3,79	3,51	741	171	141	158,7	887,5
Strümpfe Raumwolle)	50	0,53	0,50	0,48	862	188	132	130,1	900
Total	3390								
Winterüberzieh.	3015	6,12	4,31	3,99	539	163	109	253	805,5
Total	6405								

Die ungeheuer weiten Hosen der Markerkleidung findet man in früheren Zeiten als gewöhnliche allgemeine Volkstracht. Nur bei der Fischerbekleidung ist es geblieben, weil sie zweckmäßig war, denn man findet diese Hosen nicht nur in Marken, sondern auch in Volendam, Katwyk, Scheveningen. Kurz überall, wo Fischfang getrieben wird, findet man diese Form von Hosen wieder. Auf dem Lande und in den Städten und Dörfern dagegen verschwand die Tracht der geräumigen Hose mehr und

mehr als unzweckmäßig. Ihr Zweck den Beinen in stehender Haltung ihre Wärme zu erhalten und die Bewegung doch so wenig wie möglich zu beeinträchtigen war für die übrige Bevölkerung unnötig.

Ganz langsam sah man die Hosen dann enger und enger werden; die Patrizier hatten als Schmuck an der Außenseite der Hosen noch Ausbuchtungen, die Arbeiter hatten schon längst enge Hosen.

Ganz so ist es gegangen mit der Rumpfbekleidung der Marker, obwohl viele Arbeiter noch immer mehrere Bekleidungslagen

tragen, zumal die Bauchbinde, die man in Holland »Gesundheit« nennt. Die Rumpfbekleidung ist darauf berechnet, im Sommer und im Winter dem Körper ein ziemlich gleichmäßiges Quantum Wärme behalten lassen zu können. Die Bekleidung ist also nach dem Prinzip des Thermostats eingerichtet. Gut ausgerechnet ist der Körper

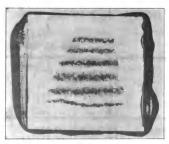


Fig. 8.

der Fischer, umgeben von sechs Lagen Kleidungsstoff, wodurch die Eigenwärme vorzüglich erhalten wird und auch wenig Wärme von außen durch direkte Bestrahlung und Leitung durchdringen kann.

Die mikroskopischen Durchschnitte der sechs Lagen, die zusammen eine Dicke von 13,37 mm formen, wird dem Leser die Sache noch übersichtlicher machen (Fig. 8).

Die Permeabilität müßte aber unter solchen Umständen außerordentlich gut erhalten sein, sonst könnte sich sehr schnell das Bild der sog. Wärmestauung entwickeln. Umgekehrt aber war der Fischer auf diese Weise, durch die gute Wasseraußsaugung seiner Kleidungsstoffe nicht genügend geschützt gegen Regen, und daher hat er seinen Segeltuch-Überzieher, den er nur bei Regen anzieht.

### 410 Bekleidung von Arbeitern in verschiedenen Lebensumständen.

Der Grundarbeiter braucht andere Eigenschaften für seine Bekleidung.

Er hat auch wohl seine Arbeit im Freien, hat aber im Winter, wenn es friert, nicht zu arbeiten, und aufserdem hat er während seiner Arbeit viel zu laufen. Er hat daher seine hohen Stiefeln und eine enge Hose, während auch sein Wams geräumiger ist als das des Fischers.

Übrigens ist, wie schon vorher gesagt, seine Oberkleidung weniger permeabel, damit er, ohne an Bewegung einzubüßen, bei regnerischem Wetter doch arbeiten kann.

Die Unterschiede werden deutlich, wenn man die Zahlen der Totaldicke der Bekleidung in Situ vergleicht (siehe Tabelle V).

Tabelle V. Dieke der Bekleidung in situ.

			Fischer		H	ausarb	eiter	Gr	Grundarbeiter			od. Kle	idung
		I	II	III	I	II	III	I	II	Ш	I	11	Ш
		Messung in situ	Dicke d. Stoffe	Luft- schicht	Messung in situ	Dicke d. Stoffe	Luft- schieht	Messung in situ	Dicke d Stoffe	Luft- schieht	Messung In situ	Dieke d. Stoffe	Luft
_		em	cm	em	em	cm	em	em	em	em	em	em	em
be i	Schulter	2,1	0,803	1,297	0,7	0,286	0,414	0,75	0,427	0,328	1,3	1,0655	0,234
Kumpierekeidung	Oberes Drittel	3,9	0,803	8,097	1,8	0,286	1,514	2,0	0,427	1,578	1,7	1,0655	0,634
-	Mittleres	4,8	1,1365	3,1635	2,0	0,286	1,714	4,1	0,427	3,673	2,7	1,0655	1,634
9	Unteres .	5,0	1,1365	3,8635	2,4	0,286	2,114	6,2	0,427	5,778	3,1	1,0655	2,034
Ì	Taille	3,2	1,343	1,857	2,4	0,510	1,890	3,1	0,771	2,329	3,1	1,6885	1,911
2	Arm	2,2	0,803	1,597	1,5	0,286	1,214	1,4	0,427	0,978	1,3	0,517	0,783
	Oberes Drittel	5,7	0,3745	5,3255	2,5	0,407	2,093	2,2	0,594	1,606	2,9	0,657	2,243
Nettine K.	Mittleres	6,8	0,2065	6,5935	2,1	0,402	1.698	1,2	0,511	0,689	1,2	0,623	0,577
-	Unteres	1,3	0,211	1,089	2,1	0,281	1,819	2,1	0,336	1,764	1,5	0,675	0,825

Diese Zahlen erhält man folgenderweise:

Durch einen gewöhnlichen Flaschenkork wird eine lange Nadel gestochen und so oft hin und her geschoben, bis sie mit Leichtigkeit sich verschieben läfst, ohne jedoch ganz lose zu sitzen. Man sticht nun die Nadel ein durch das Kleid, bis die zu untersuchende Person die Spitze fühlt, und schiebt dann den Kork bis an die äußerste Bekleidungsschicht, ohne jedoch fest anzudrücken, damit man keine Ausbuchtungen macht und dadurch weniger Luft mifst, als wirklich anwesend ist. Die Nadel muß nun genügend festsitzen, um während des Ausziehens nicht im Kork verschoben zu werden.

Die Länge der Nadel wird nun gemessen.

Rubner macht das mittels Kathetometers. Weil aber durch allerlei kleine Umstände, zumal bei den geräumigen Hosen der Markerkleidertracht, Unterschiede von beinahe 1 cm beobachtet wurden, habe ich die Messung mit einem gewöhnlichen, genau verteilten Messingmaßstab vorgenommen und habe meiner Meinung nach auf diese Weise genügend genaue Resultate erzielt.

Die Zahlen der Tabelle V sind nun bequem zu vergleichen, und es ist deutlich, dass die moderne Winterkleidung, ohne Überzieher gemessen, nicht viel dünner, ja auf einigen Punkten sogar dicker ist als die Fischerkleidung. So z. B. in der Taille und an der Hose. Die Luftschicht ist aber beim Fischer überall größer. Schon aus diesen Zahlen allein kann man begreifen, welch großen Einfluß die Luftschicht haben muß auf die Erhaltung der Eigenwärme des Körpers. Wir sollten es doch nicht versuchen, im Winter ohne Überzieher aufs Meer arbeiten zu gehen, und doch macht der Fischer das, ohne zu kalt zu werden, infolge der 2-6 cm dicken, stille oder fast stille stehenden Luftschicht, die er um sich herum mitträgt, während die moderne Kleidung kaum 2 cm Luft aufweist. Auch der Grundarbeiter hat höhere Zahlen für die Kleiderluft. Sie schwanken zwischen 1,6 cm bis 5,7 cm, während der Hausarbeiter dieselben Zahlen der modernen Kleidung gibt.

Vergleichen wir jetzt die Dicke der Kleidungsstoffe mit den Zahlen Rubners für Bekleidung des Rumpfes im Sommer, Herbst und Winter<sup>1</sup>), so finden wir:

Die Zahlen Rubners für Herrenkleider:

Meine Zahlen:

1,262	$^{ m cm}$	Winter	Fischer	1,1365	cm
0,592	•	Herbst	Grundarbeiter	0,427	>
0,336	>	Sommer	Hausarbeiter .	0,286	>

<sup>1)</sup> Archiv f. Hygiene, Bd. XXXI, Heft 2, S. 255.

Es gibt also eine gewisse Übereinstimmung in diesen Zahlen, nur ist es auch deutlich, dass der von mir untersuchte Winteranzug für Herren viel dicker war als der Rubnersche, habe ich doch mit Überzieher am Rumpf eine Dicke gefunden von 1,6775 cm gegen Rubner nur 1,262 cm. Bei sehr kalter Witterung dagegen zieht die von Rubner untersuchte Person einen Pelz an, womit die Dicke auf 2,602 cm steigt. Pelze sind aber in Holland ziemlich seltene Ausnahmen, und es gilt im allgemeinen als ein Zeichen von Reichtum, wenn man einen Pelz trägt, daher wird vielleicht die übrige Kleidung etwas dicker genommen, um auch gegen sehr kalte Witterung Schutz zu haben. Im großen Ganzen kann man aber sagen, daß die Dicke der Fischerkleidung übereinstimmt mit der modernen Winterkleidung, wenn es nicht gar zu kalt ist; wenn das Meer zugefroren ist, geht aber der Fischer auch nicht mehr an seine Arbeit.

Die Kleidung des Grundarbeiters, der im Winter gar nicht draufsen arbeitet, stimmt überein mit der modernen Herbst- oder Frühjahrskleidung, indem die Kleidung des Hausarbeiters in Dicke steht zwischen der modernen Kleidung des Sommers und des Hochsommers.

Die Zahlen, welche die Zusammendrückbarkeit der Kleidungsstoffe anzeigen, bieten keinen besonderen Anlass zu neuen Gesichtspunkten. Die größte Permeabilität finden wir bei einem pseudo-jägerwollenen Hemd des Grundarbeiters und bei dem Leibrock des Fischers, wedurch ein Druck von 250 g pro ccm die Dicke resp. bis auf 55,4% und 78,5% vermindert. Anders ist es mit der Kapazität für Wasser, und ich glaube, daß es wünschenswert ist, nochmals die Aufmerksamkeit auf diesen so wichtigen Faktor der Bekleidungsfrage zu lenken. Wie ich auch schon früher gesagt habe: Zahlen, die genau diese Eigenschaft andeuten, sind nicht zu geben. Wohl aber ist es möglich, durch Durchnässung und Wiegen der ausgetropften Stücke Zahlen zu bekommen, die ein Bild geben über diese Eigenschaft, ohne ungewisse Einwirkung von außen. Nach dem Vorbild Rubners nennen wir das die maximale Kapazität für Wasser, und diese Kapazität wird ausgedrückt in Volumprozenten

des untersuchten Stoffes. Ein oberflächlicher Anblick über die gefundenen Zahlen genügt, um sofort die Superiorität der Fischerkleidung in dieser Hinsicht anzuerkennen, und wenn wir ausrechnen, wie schwer die Fischerkleidung wird, wenn sie total durchnäfst ist, so finden wir 11999,13 g, also beinahe 12 kg, d. h. die Kleidung nimmt fast ihr eigenes Gewicht an Wasser auf. (Tab. VI).

Tabelle VI. Gewicht des Wassers, das die verschiedenen Kielderstoffe behalten können wenn sie durchnäfst sind.

,	Fischer	Hausarbeiter	Grundarbeiter	Moderne Kleidung
Hemd	896,75	408,15	716,67	245,91
Leibrock	1 763,58	293,97	149,94	205,76
Bauchgürtel	592,08	_		169,56
Jacke	512,08	298,75	489,72	631,14
Unterhosen	508,08	238,29	241,61	218,66
Hosen	484,56	694,18	534,86	386,22
Strümpfe	1 011,73	228,18	255,29	43,10
Überzieher	_	_	1 198,06	1 525,08
Total .	5 769,13	2 161,62	3 586,15	8 425,48
Gew. d. Kleidung	6 230,00	8 097,00	5 580,00	6 405,00
Total general	11 999.18	5 258,62	9 116,15	9 830,43
Waseer %	92,6	69,7	64,8	53,4

Die moderne Herrenkleidung nimmt nur etwas mehr als die Hälfte seines Gewichts an Wasser auf und bleibt dadurch, obwohl im Trockenzustand schwerer als die Fischerkleidung, nach Durchnässung rund 2 kg hinter der Fischerkleidung zurück, d. h. ein Unterschied von 40%. Vergleichen wir die Wasseraufnahme der Kleidung der Armenanstalt und die moderne Kleidung dieses Mal ohne Überzieher, so sehen wir, dass auch da wieder die moderne Kleidung zurückbleibt (Hausarbeiter 2161,62 gegen moderne Kleidung 1900,35) um 260 g: wohl nicht so viel, aber immerhin ein Unterschied von 12%. Gegen die Kleidung des Grundarbeiters ist der Unterschied nur noch 10%, weil nicht nur der Überzieher des letzteren, sondern auch die Jacke darauf

berechnet ist, bei Regen getragen zu werden und diese beiden Stoffe daher ziemlich impermeabel sind für Feuchtigkeit und deshalb auch nur wenig Wasser resorbieren. Die erste Bekleidungslage nimmt aber sehr viel Wasser auf, viel mehr als beim Hausarbeiter oder bei der modernen Kleidung, und es ist notwendig, das zu betonen, weil man sonst in dieser Hinsicht die moderne und die Grundarbeitersbekleidung für identisch halten würde. Das ist aber keineswegs der Fall, die Unterschiede beziehen sich meiner Meinung nach auf die Arbeitsleistung. Im Sommer wird der Fischer in seiner schweren dicken Kleidung sehr viel schwitzen, daher braucht er Stoffe mit großer Kapazität für Wasser, die dann eben doch noch eine gute Permeabilität erhalten, um der Wärmestauung vorzubeugen. Dasselbe kann man sagen vom Grundarbeiter, der aber um seinen Rumpf herum eine große Luftschicht hat und dadurch, wenn nur die erste Schicht imstande ist, viel Wasser aufzunehmen, eine genügende Durchströmung feuchter Gase möglich gemacht ist.

Der Hausarbeiter hat viel weniger Neigung und Anleitung zum Schwitzen, während seine sitzende oft monotone Arbeit, die aber immerhin noch Handarbeit bleibt, daher Muskeln in Bewegung setzt und doch noch etwas antreibt zur Schweißproduktion. Nur äußerst wenig hat damit der Geschäftsmann zu tun, zumal im Winter (die untersuchte Kleidung war ein Winter-Colbert). und daher braucht er auch gar nicht die große Wasseraufnahme.

Die Zahlen, womit im vorstehenden die Permeabilität augedeutet ist, sind angegeben in meiner Einheit, d. h. ich nenne 1000, die Permeabilität, wobei in der Zeit von 1 Minute 1 l Leuchtgas durch eine Öffnung von 1 qcm geht unter einem Druck von 10 cm Wasser.<sup>1</sup>)

So hat z. B. die Permeabilität des Hemdes des Fischers und auch des Grundarbeiters einen Wert von 184, d.h. daß 2500 ccm Leuchtgase (der Inhalt unseres Gasrohrs) unter einem Druck von 20 ccm Wasser (dem zeitlichen Druck des Amsterdamer Leuchtgases) in 1 Min. 38 Sek. durch eine Öffnung von 3,14 qcm, die mit dem Stoffe abgesperrt ist, hindurch gehen.

<sup>1)</sup> Archiv f. Hygiene, Bd. 51, 8, 221.

Die Fischerkleidung gibt hier wiederum die höchsten Zahlen, sowohl in nassem als in trockenem Zustande, und das ist auch leicht begreiflich. Bei dieser Dicke und dieser enormen Kapazität für Wasser war eine außerordentlich gute Permeabilität, die auch in nassem Zustande gut erhalten blieb, eine Notwendigkeit.

Nur bei der Fischerjacke und auch bei der Hose sinkt die Permeabilität bei Durchnässung sehr viel. Die Jacke wird aber während der Arbeit nicht getragen, und für die Hosen trifft dasselbe zu, was wir schon von der Rumpfbekleidung des Grundarbeiters gesagt haben: die Durchströmung von Kleiderluft ist durch die 6 cm dicke Luftschicht in der Hose genügend versorgt.

Wir sehen demgemäß denn auch die Permeabilität beim Wams und den Hosen des Grundarbeiters im nassen Zustande sinken bis auf 58 und 55 (bei der Fischerkleidung war das nur bis 105 und 108).

Viel gleichmäßigere Zahlen gibt die Kleidung der Hausarbeiter, die nicht gerade zu permeabel ist, von dieser Permeabilität durch Feuchtigkeit aber nur sehr wenig einbüßt, mit Ausnahme der Hosen, die von 163 auf 64 sinkt, durch Wasserdampfzuführung.

Fast ganz so verhält sich die moderne Kleidung, die auch einen wenig permeablen Stoff besitzt, in dem Leibrock, d. h. was wir gewohnt sind, Hemd zu nennen. Aus Baumwolle oder aus Leinen angefertigt, hat das Hemd nur eine Permeabilität von resp. 149 oder 127,9 cm, wobei letzteres (das Leinen) durch Aufnahme von Wasser ziemlich viel impermeabler wird und sinkt auf 91,6. Auch der wollene Flanell geht durch Feuchtigkeit noch herunter von 179 auf 132,5 cm.

Neuerdings hat man dieses Übel für die moderne Kleidung zu umgehen gesucht durch das Tragen von netzartig gewebten Stoffen als Unterkleidung. Man hat damit dreierlei gewonnen: zuerst eine große Verbesserung der Permeabilität, die natürlicherweise auch durch Wasser gar nicht oder fast gar nicht geändert wird, zweitens ein viel geringeres Gewicht der Kleidung und drittens ein sehr großes Porenvolum. Die Kapazität zur Wasser-

aufnahme wird aber sehr gering, infolgedessen kommt es nicht sehr selten vor, daß Wasser in flüssigem Zustande auf der Haut sitzen bleibt und bei schneller Bewegung oder bei Wind zu unangenehmen Kälteempfindungen Anlass gibt, so dass zu gleicher Zeit herauskommt, dass die Wärmeregulierung, zumal wenn die übrige Kleidung dünn ist, nicht so gut ist.

Es erübrigt uns jetzt die Besprechung des Porenvolums und des spezifischen Gewichts, zweier Faktoren, die mit einander nahe verwandt sind, weil das spezifische Gewicht der Grundstoffe ohne Luft, sei es Leinen, Seide, Baumwolle oder Wolle, immer dasselbe ist.

Ein hohes Porenvolum schliefst also in sich ein geringes Quantum des Grundstoffes und daraus folgt ein niedriges spezifisches Gewicht.

Theoretisch will es mir nur vorkommen, dass die Stoffe mit niedrigem spezifischen Gewicht und großem Porenvolumen, wenn sie nicht zu dünn sind, am meisten den Vorzug verdienen für die Bekleidung. Sie sollen nicht zu dünn sein, weil es dann zu Luftbewegung kommt, die schneller ist als 4 m pro Sekunde und infolgedessen von unserem Körper als Wind, Kälte empfunden wird.

Das höchste Porenvolum wird nun gefunden an dem dieken wollenen Fischerhemd (916,61%), das niedrigste am dünnen, leinenen, modernen Leibrock (485%), das aber mit einem größeren Porenvolumen viel zu dünn sein würde.

Neben den größeren Luftschichten hat das Porenvolum am meisten die Wärmeregulierung zu versorgen, und man kann sagen. daß sich bei den hier vorgeführten Kleidertrachten zwei Typen gezeigt haben, wo es die Wärmeregulierung betrifft. Der erste Typus der Marker Rumpfbekleidung, sehr dicke Stoffe, vielmals übereinander mit sehr hohem Porenvolumen und relativ wenig Zwischenluft, der zweite Typus der Grundarbeiter-Rumpfbekleidung, eventuell der Marker Oberbeinbekleidung eine gut permeable, viel Wasser aufsaugende Unterlage mit nachfolgender großer Schichtzwischenluft, nach außen abgeschlossen von einem ziemlich wenig permeablen dünnen Kleiderstoff. Der erste Typus hat enge, anschließende Bekleidungsform, ist aber oben und

unten nicht auffallend geschlossen, der zweite Typus ist meistens oben und unten abgeschlossen (Marker Hosen), oder denn doch wenigstens oben abgeschlossen (Volendamer Hosen).

Die Bezeichnung dieser Kleidungsformen wird uns erst deutlich, wenn wir die schönen Untersuchungen Rubners kennen über die Ventilation der Kleiderluft. Eine Ventilation der Kleiderluft ist sehr notwendig, hat doch die Kleiderluft 33 % CO  $_2$  durch die Perspiratio insensibilis, die Luft der Kleider soll aber nur sehr langsam durch neue ersetzt werden, um nicht das Gefühl von Wind und Kälte hervorzubringen.

Rubner hat nun mit zu diesem Zwecke selbst konstruiertem Anemometer die Schnelligkeit der Luftwechslung registriert, wie sie zwischen den verschiedenen Kleidungslagen stattfindet.

Die Notwendigkeit dieser Luftwechslung vorausgesetzt, ist es begreiflich, daß, wenn die oberflächliche Lage eine impermeable ist, die zwischenliegenden Lufträume so groß sein sollen, daß die geringe Luftströmung durch zufällige Aus- und Einbuchtungen genügend unterhalten wird, wobei eine Abschließung wenigstens an die Oberseite wünschenswert erscheint, sonst käme es zu schnell zur Abkühlung, denn die am Körper erwärmte Luft steigt natürlich in die Höhe und versucht an der Oberseite zu entweichen. Hier sehen wir wieder eine Ursache der natürlichen Ventilation der Kleider.

Diese Ventilation kann aber ruhig vor sich gehen, wenn alle Lagen der Kleidung dicht und permeabel und mit großem Porenvolumen versehen sind, denn die Porenluft entweicht nicht schnell, wird im Gegenteil ziemlich gut festgehalten und dadurch gibt die Ventilation keinen Anlaß zu Kälteempfindungen.

Die Notwendigkeit, die Ventilation gut zu erhalten, ist am meisten ausgesprochen an der Halsbekleidung und hiermit berühre ich den einzigen Punkt, worin die moderne Herrenkleidung zweifelsohne hinter der Arbeiterkleidung zurücksteht.

Die Arbeiter haben alle eine Kravatte, die, wenn nötig, Hals und Nacken vor Abkühlung schützt, die Rumpfbekleidung endet aber mit einem sanften Rande, der nicht eng um den Hals schließt und keinen Zusammenhang hat mit der Kravatte. Dieser bequem sich biegende Rand wird nun nur durch die Schwere der Kleidung gegen den Körper angedrückt und auf den Figuren, wo die Dicke der sämtlichen Bekleidung angegeben ist, findet sie auch immer wieder deutlich die Dicke auf den Schultern am mindesten durch den Druck.

Die moderne Herrenkleidung aber schützt den Hals durch einen hohen steifen Kragen, der wohl mit dem Hemd in Zusammenhang ist und auf diese Weise, entweder wenn er nicht eng ist, zu viel Ventilation gibt, wofür denn abermals eine Kravatte über dem Kragen getragen wird, oder wenn er sehr eng ist, zu unangenehmen Störungen der Halsbewegung und auch der Blutzirkulation Anlass gibt.

Glücklicherweise beginnt sich in die moderne Damenkleidung einzubürgern das Tragen von offenem Hals, der bei Kälte durch eine Boa oder ein einfaches Tuch bedeckt wird. Die Herren der Schöpfung können sich hieran ein Beispiel nehmen.

Zum Schluss möchte ich nur noch bemerken, dass in der Tat, wie schon vorher vermutet, jede Bekleidungsart den speziellen Anforderungen, die an sie gestellt werden, entspricht und das im Laufe der Zeit die Bekleidung sich dem Beruf angepast hat.

Nicht gern sollte der Hausarbeiter in der thermostatisch zusammengestellten Fischerkleidung arbeiten und noch viel mehr als jetzt schon sollten die Phthisis und andere Lungenkrankheiten ihre Opfer unter den Fischern fragen, wenn sie ihre Arbeit in moderner Herrenkleidung erledigten.

Jeder hat also, was ihm am besten passt.

YD 11576

9491 JA



754927

RA421 A75 V.56

PUBLIC HEALTH LIBRARY

UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY



